Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH
H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK, **R. HARDER**-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN
W. RUHLAND-UNTERDEUFSTETTEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON

L. BRAUNER
MÜNCHEN

E. BÜNNING
TÜBINGEN

53. BAND, 2. HEFT
MIT 38 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 15. APRIL 1959)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1959

Planta (Berl.)

Preis DM 21.80

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland, L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag

Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 83 03 01

und

Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2 79 01

53. Band **Inhaltsverzeichnis** 2. Heft

Seite

MOHR, H., Der Lichteinfluß auf die Haarbildung am Hypokotyl von *Sinapis alba* L. Mit 3 Textabbildungen 109

WERLE, E., G. BEAUCAMP und V. SCHIRREN, Über die Aminoxydase von Erbsenkeimlingen und ihre Bedeutung für die Keimung. Mit 3 Textabbildungen 125

SCHWEMMLE, B., und O. L. LANGE, Endogen-tagesperiodische Schwankungen der Hitzeresistenz bei *Kalanchoë bloßfeldiana*. Mit 1 Textabbildung . . 134

WERZ, G., und J. HÄMMERLING, Proteinsynthese in wachsenden und nicht wachsenden kernlosen Zellteilen von *Acetabularia*. Mit 3 Textabbildungen 145

RICHTER-LANDMANN, W., Der Befruchtungsvorgang bei *Impatiens glandulifera* ROYLE unter Berücksichtigung der plasmatischen Organelle von Spermazelle, Eizelle und Zygote. Mit 3 Textabbildungen 162

BOPP, M., Versuche zur Analyse von Wachstum und Differenzierung des Laubmoosprotonemas. Mit 11 Textabbildungen 178

ARNOLD, C.-G., Die Blütenöffnung bei *Oenothera* in Abhängigkeit vom Licht-Dunkelrhythmus. Mit 14 Textabbildungen 198

BODE, H. R., Über den Einfluß des Heteroauxins auf die Kationenzusammensetzung der Blattasche der Tomate. Kurze Mitteilung 212

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta, 53, 109—124 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen

DER LICHTEINFLUSS AUF DIE HAARBILDUNG AM HYPOKOTYL VON *SINAPIS ALBA* L.

Von

HANS MOHR

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 19. Januar 1959)

1. Einleitung

In der vorangegangenen Arbeit dieser Reihe (MOHR 1957) ist der Einfluß des Lichts (400—800 mμ) auf das Längenwachstum des Hypokotyls und auf die Bildung von Anthocyan bei frühen, im Dunkeln entstandenen Keimlingsstadien von *Sinapis alba* untersucht worden. Dabei hat sich gezeigt, daß die beobachteten Effekte der Bestrahlung sich nur deuten lassen, wenn man annimmt, daß neben dem bekannten Reversiblen Hellrot-Dunkelrot-Reaktionssystem (vgl. z.B. BORTHWICK u. Mitarb. 1954; HENDRICKS u. Mitarb. 1956; WITHROW u. Mitarb. 1957; MOHR 1959) noch ein weiteres Reaktionssystem wirksam ist[1]. Während das Reversible HR-DR-Reaktionssystem schon bei Einstrahlung einer relativ geringen Energiemenge des wirksamen Spektralbereichs nachgewiesen werden kann (Niederenergiereaktion[1]), wird das andere Reaktionssystem erst nachweisbar, wenn eine größere Energiemenge bei höherer Intensität eingestrahlt wird (Hochenergiereaktion[1]). Das vorläufige, nur ungenügend für den Einfluß der NER korrigierte Wirkungsspektrum der HER wurde näherungsweise zwischen 400 und 800 mμ bestimmt. Es ist zweigipfelig: Die Gipfel liegen im Dunkelrot und im Blau (deshalb: Blau-DR-Reaktionssystem).

Die bisher bekannten Fakten lassen sich einfach durch folgende Vorstellung deuten: Das primäre Ereignis, das letztlich die Photomorphose im Gefolge hat, ist die Energieabsorption in 2 Pigmentsystemen (Reversibles HR-DR-Pigmentsystem bzw. Blau-DR-Pigmentsystem). Diese Energieabsorption ermöglicht photochemische Reaktionen. Diese führen zu fundamentalen Umsteuerungen des Stoffwechsels der Zellen, was sich letztlich in den von uns beobachteten Photomorphosen äußert. Die Energieabsorption in *beiden* Pigmentsystemen führt letztlich zu *denselben* Veränderungen im Stoffwechsel der Zellen (und damit zu denselben Photomorphosen), obgleich die durch die Strahlungsabsorption ermöglichten photochemischen Reaktionen in beiden Fällen ver-

[1] Folgende Abkürzungen werden verwendet: HR = Hellrot, DR = Dunkelrot, NER = Niederenergiereaktion, HER = Hochenergiereaktion.

schieden sein müssen, denn die Systeme arbeiten weitgehend unabhängig voneinander.

Die chemische Natur der Pigmentsysteme ist, trotz entsprechender Arbeiten, in beiden Fällen noch unbekannt. Es scheint, daß zumindest das Reversible HR-DR-Pigmentsystem in Zellen praktisch aller oberirdischen Organe der höheren Pflanze vorkommt (vgl. z.B. die Arbeiten über die Reaktionsfähigkeit isolierter Organe bzw. Organteile, LIVERMAN und BONNER 1953, LIVERMAN u. Mitarb. 1955, WITHROW u. Mitarb. 1957). Ob es in *allen* Zellen dieser Organe vorkommt, ist eine noch ungeklärte Frage.

Die weitere Untersuchung der Photomorphogenese der jungen Keimlinge von *Sinapis alba* hat folgende Ziele:

a) Wir wollen wissen, ob man auch die anderen, leicht registrierbaren Photomorphosen auf die Energieabsorption in jenen 2 Pigmentsystemen zurückführen kann. Mit anderen Worten: Wir wollen erfahren, ob alle erfaßbaren Photomorphosen als Manifestationen ein und derselben fundamentalen Umsteuerung des Zellstoffwechsels aufgefaßt werden können. Je nach der Organzugehörigkeit der Zellen würden dann die spezifischen Photomorphosen auftreten.

b) Wir wollen versuchen, die beiden Reaktionssysteme physiologisch schärfer zu trennen und besonders die HER besser zu charakterisieren. Es soll z.B. genau festgestellt werden, welcher Anteil der photomorphogenetischen Gesamtreaktion nach Einstrahlung einer bestimmten Zahl von Quanten während einer bestimmten Zeit auf die Energieabsorption in dem einen Pigmentsystem zurückgeht und welcher Anteil auf die Energieabsorption in dem anderen Pigmentsystem.

c) Man kann das Reversible HR-DR-Pigmentsystem folgendermaßen ormulieren (reversible Isomerisation); vgl. hierzu BORTHWICK u. Mitarb. 1954) und MOHR (1959):

$$P_{HR} \underset{\text{Dunkelrot}}{\overset{\text{Hellrot}}{\rightleftharpoons}} P_{DR}.$$ Vgl. Fußnote[1]

P_{DR} ist die physiologisch „aktive" Form (vielleicht Teil eines Enzyms, das eine wichtige Reaktion katalysiert). Das Ausmaß der beobachtbaren Photomorphose (Mittelwert einer Population) hängt von der Menge des

[1] P_{HR} = Pigment mit Absorptionsgipfel im hellroten Spektralbereich. P_{DR} = Pigment mit Absorptionsgipfel im dunkelroten Spektralbereich. HENDRICKS u. Mitarb. ziehen neuerdings die bimolekulare Formulierung vor:

$$PH_2 + A \underset{\text{Dunkelrot}}{\overset{\text{Hellrot}}{\rightleftharpoons}} P + AH_2$$

A bzw. AH_2 sind Reaktanten, A wird als H-Acceptor, AH_2 als H-Donator betrachtet. Da noch nicht eindeutig entschieden ist, ob dieser Formulierung der Vorzug zu geben ist, verwenden wir, um der Einfachheit willen, vorläufig die Formulierung als Isomerisation. Unsere experimentellen Befunde lassen sich natürlich auch mit der bimolekularen Formulierung entsprechend interpretieren.

vorhandenen P_{DR} (ebenfalls Mittelwert einer Population) ab (eine quantitativ abgestufte, auf das Reversible HR-DR-System zurückführbare photomorphogenetische Reaktion einer *Einzelzelle* ist bisher wohl noch nicht erfaßt worden). In den Zellen des etiolierenden Dunkelkeimlings von *Sinapis alba* liegt das Gleichgewicht dieser Reaktion ganz auf der Seite des P_{HR}. Wird der Dunkelkeimling mit HR bestrahlt, so wird P_{HR} in P_{DR} umgewandelt. Nun kann, da das Gleichgewicht zwischen P_{HR} und seiner Vorstufe gestört ist, P_{HR} nachgebildet werden. Dies führt dazu, daß einige Zeit nach einer saturierenden Bestrahlung mit HR wieder eine „Empfindlichkeit" für HR auftritt. Eine erneute Bestrahlung mit HR führt nun zu einer weiteren Bildung von P_{DR} und damit zu einer Steigerung der beobachtbaren photomorphogenetischen Reaktion. — Es soll in dieser Arbeit untersucht werden, ob sich diese Vorstellungen bei entsprechenden Versuchsansätzen bewähren[1].

Gewisse Epidermiszellen des Hypokotyls der jungen Keimlinge von *Sinapis alba* sind in der Lage, zu einzelligen Haaren auszuwachsen. Diese Haarbildung kann, wie uns schon früher aufgefallen ist, durch Belichtung sehr stark gefördert werden. Die Haarbildung kann deshalb als „Photomorphose" aufgefaßt werden. In der vorliegenden Arbeit registrieren wir lediglich eine bestimmte Zeit nach der Belichtung, ob (bezogen auf die Einzelzelle!) eine relativ kurze Belichtung der jungen Dunkelkeimlinge eine Haarbildung auslöst oder nicht (im Sinne einer „Alles-oder-Nichts-Reaktion"). Über einen Einfluß des Lichts auf Form oder Länge der Haare wird in dieser Arbeit nichts ausgesagt.

Eine zur Haarbildung befähigte Epidermiszelle kann mit einer hinsichtlich der Keimung lichtbedürftigen Spore (z. B. Farnspore) verglichen werden. In beiden Fällen reagieren Einzelzellen mit einer „Alles-oder-Nichts-Reaktion" auf Belichtung. Dies ist wertvoll, denn die Reaktion eines Kollektivs von Einzelzellen ist bei theoretischen Formulierungen viel einfacher zu behandeln als die Reaktion eines Kollektivs vielzelliger Gebilde (z. B. Samenkeimung). Während also die Reaktion der einzelnen Epidermiszelle eine „Alles-oder-Nichts-Reaktion" sein dürfte, ist die Reaktion des Kollektivs von haarbildenden Epidermiszellen quantitativ abgestuft, da die Zellen sich hinsichtlich ihres Bedarfs an Strahlung unterscheiden. Die Messung der Reaktion des Kollektivs gestattet wohl begründete Aussagen hinsichtlich der auf die Strahlungsabsorption folgenden Vorgänge in der Einzelzelle!

2. Methodik

a) Material: Das verwendete Samenmaterial von *Sinapis alba* L. hat mir Dr. H. A. Borthwick, Plant Industry Station, Beltsville, Md., USA, überlassen (Ernte 1956). Es handelt sich hinsichtlich aller bisher untersuchten Reaktionen um ein sehr homogenes Material (sichtbar geschädigte und grüne Samen werden verworfen). Die Samen keimen sehr gleichmäßig und praktisch zu 100%. Über längere Zeiten werden die Samen im Kühlschrank bei $+2$—4^0 C aufbewahrt.

[1] Wir vernachlässigen in dieser Arbeit die strahlungsunabhängige, thermische Rückbildung von P_{DR} in P_{HR}, die unter unseren Bedingungen quantitativ gering sein dürfte; vgl. Mohr (1959).

b) Der allgemeine Versuchsansatz: Alle Versuche werden bei 25° C durchgeführt. Die Samen werden auf 3 Lagen Keimpapier (Charybdis-Löschpapier 9142/11) in farblosen Kunststoffbehältern („Gerda"-Kühlschrankbehälter) ausgesät. Das Keimpapier wird vor der Saat 15 Std in Leitungswasser gequollen, dann wird das freie Wasser abgegossen. Pro Behälter werden 25 Samen ausgesät (etwa äquidistant auf 3 konzentrischen Kreisen mit Radius 2,5, 1,5 und 0,5 cm). Nach der Saat werden 4 ml Leitungswasser zugefügt. Bei Beendigung der Versuche ist stets noch freies Wasser vorhanden. Die relative Luftfeuchtigkeit in den Behältern ist also während der Dauer der Versuche hoch und konstant. 24 Std nach der Aussaat erfolgt die Bestrahlung, die maximal 256 min dauert. 24 Std nach der Aussaat haben praktisch alle Samen gekeimt (Abb. 1). Während der Bestrahlung sind die Gefäße mit Glasplatten (anstelle des Deckels) abgedeckt. 72 Std nach der Aussaat erfolgt die mikroskopische Auszählung der gebildeten Haare. Es werden die bei einer bestimmten Einstellung des Mikroskops (medianer, optischer Längsschnitt durch das Hypokotyl, 3,5fache Objektivvergrößerung) feststellbaren Haare an den unteren 8,6 mm des Hypokotyls (gemessen vom Wurzelansatz an) gezählt („Relative Haarzahl"). Die Auszählung der Haare ist eine schwierige und mühsame Arbeit. Um subjektive Einflüsse möglichst auszuschalten, wurden die meisten Experimente von derselben Person ausgewertet. Der Meßwert braucht jedoch nicht erheblich von der auswertenden Person abzuhängen, denn bei einem notwendig gewordenen Wechsel der Hilfskraft zeigten entsprechende Teste, daß sich die Meßwerte kaum änderten.

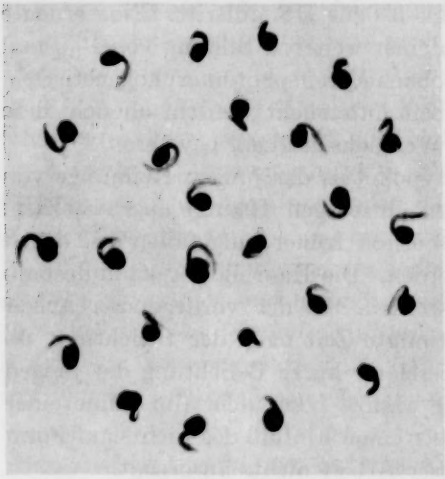


Abb. 1. Der Keimungszustand der verwendeten Samen von *Sinapis alba* L. 24 Std nach der Aussaat (25° C)

Wir verwenden also als Bezugssystem einen bestimmten Längenabschnitt des Hypokotyls. Ein gewisser Fehler könnte dadurch auftreten, daß die Bestrahlung nicht nur Haarbildung auslöst, sondern auch das Längenwachstum des Hypokotyls hemmend beeinflußt, so daß die jeweils benützten 8,6 mm nicht mehr genau vergleichbar sind. Bleibt auch die Zahl der zu Haaren auswachsenden Zellen konstant, so wird sich doch die „Relative Haarzahl" erhöhen, falls das Längenwachstum des betreffenden Hypokotylabschnitts durch die Bestrahlung gehemmt wird. Tabelle 1 zeigt jedoch deutlich, daß die starke Erhöhung der „Relativen Haarzahl" durch eine einmalige Bestrahlung nicht auf eine Etiolementverhinderung des Hypokotyls zurückgehen kann. Auch alle anderen daraufhin durchgeführten Versuche lassen den Schluß zu, daß die Beeinflussung des Längenwachstums des Hypokotyls innerhalb der von uns verwendeten Bestrahlungszeiten keinen wesentlichen Einfluß auf die „Relative Haarzahl" hat. Geringere Einflüsse könnten jedoch vorhanden sein. Aus mehreren Gründen wurde die maximale Bestrahlungszeit von 1×4 Std nicht überschritten. Erstens sollte eine Beeinflussung des Längenwachstums des Hypokotyls möglichst vermieden werden und zweitens wird die Auszählung der Haare bei hohen „Relativen Haarzahlen" sehr schwierig.

Tabelle 1

Der Einfluß einer ein maligen Bestrahlung mit „Weißlicht" (Leuchtstoffröhren, 4600 Lux) auf die Haarbildung und auf die Länge des Hypokotyls (Auswertung: 48 Std nach Belichtung).

Bestrahlungszeit (min)	Hypokotyl-Länge (mm)	Relative Haarzahl
0	32,6	2,0
120	31,3	55,6

Während der 4 Std, innerhalb derer alle unsere Bestrahlungsprogramme ablaufen, konnten wir keine signifikante Änderung der „Empfindlichkeit" für eine bestimmte Dosis Strahlung feststellen.

c) Alle in dieser Arbeit verwendeten Bestrahlungsanlagen sind bei Mohr und Schoser (1959) genau beschrieben. Bezüglich aller Einzelheiten (z. B. HR- bzw. DR-Feld, Interferenzfilter-Monochromatorsystem, „Weißlicht"-Feld, Meßtechnik) sei darauf verwiesen. Erwähnt sei nur, daß das DR mit Hilfe von Cellophan-Farbfiltern hergestellt wurde.

d) Fehlerbetrachtung: Im Einzelexperiment werden 25 Samen pro Gefäß ausgesät, 20 Keimlinge verwendet, die 5 kleinsten Keimlinge (hinsichtlich der Länge des Hypokotyls) verworfen. Die Streuung im Einzelexperiment (20 Keimlinge) ist beträchtlich: Der relative mittlere Fehler beträgt im allgemeinen etwa 5—10%. In den Tabellen und Kurven dieser Arbeit sind Mittelwerte aus mehreren gleichsinnigen Experimenten angegeben. Dadurch erniedrigt sich der mittlere Fehler entsprechend.

3. Experimentelle Ergebnisse und ihre Deutung

a) Die Grundexperimente im HR- und im DR-Feld: Die Keimlinge werden im Standard-HR-Feld bzw. im Standard-DR-Feld bei konstanter Intensität verschieden lange bestrahlt. Abb. 2 zeigt die resultierenden Energie-Effekt-Kurven. Abb. 3 demonstriert die Reversibilisierung einer HR-Induktion durch nachfolgendes DR. Die Kurven der Abb. 2 und 3 sind sehr ähnlich wie die entsprechenden Kurven für die Induktion der Anthocyanbildung bei Keimlingen von *Sinapis alba* (Mohr 1957). Man darf sich also vorstellen, daß Anthocyanbildung und Haarbildung nur verschiedenartige Manifestationen ein- und derselben, durch die Strahlungsabsorption induzierten, fundamentalen Änderung des Stoffwechsels der betreffenden Zellen sind (vgl. Einleitung). Offenbar erfolgt auch bei der Haarbildung die wirksame Strahlungsabsorption sowohl im Reversiblen HR-DR-Pigmentsystem wie auch in einem Pigmentsystem, das erst nachweisbar wird, wenn größere Energiemengen eingestrahlt werden (HER-System).

b) Die Trennung der „Niederenergie-Reaktion" von der „Hochenergie-Reaktion": Die Frage ist, wieviel des Totaleffekts von 256 min HR bzw. DR auf die NER und wieviel auf die HER zurückgeht. Das

Problem wird in folgender Weise gelöst: Aus Abb. 2 (obere Kurve) geht hervor, daß schon 1 min HR das Reversible HR-DR-Reaktionssystem praktisch mit HR saturiert. Wir können annehmen, daß sich schon nach 1 min HR in den haarbildenden Zellen ein der spektralen Energieverteilung unseres HR entsprechendes dynamisches Gleichgewicht zwischen P_{HR} und P_{DR} eingestellt hat. Dieses Gleichgewicht liegt stark auf der Seite des P_{DR}. Weil nun das Gleichgewicht zwischen P_{HR} und seiner Vorstufe gestört ist, so wird P_{HR} nachgebildet. Sobald mehr P_{HR} vorhanden ist, als dem durch das HR gegebenen Gleichgewicht entspricht, wird P_{HR} in P_{DR} umgewandelt usw. Das Resultat ist, daß sich bei andauernder Bestrahlung mit HR die Menge an P_{DR} in den Zellen erhöht und entsprechend der beobachtbare Effekt (Relative Haarzahl) gesteigert wird. Wir können uns nämlich vorstellen, daß ein bestimmter Schwellenwert an P_{DR} in den Epidermiszellen vorhanden sein muß, damit die Reaktionen, die letztlich zur Haarbildung führen, in Gang kommen können (Alles-oder-Nichts-Reaktion). Bei einer bestimmten Zahl potentieller Haarbildner genügt schon eine einmalige Einstellung des Gleichgewichts mit HR zur Erreichung des Schwellenwerts an P_{DR}, bei anderen Zellen jedoch ist eine einmalige saturierende Bestrahlung mit HR hierfür nicht ausreichend. Hier kann jedoch der Schwellenwert schließlich doch erreicht werden, wenn man der Zelle Gelegenheit gibt, P_{HR} nachzubilden, und wenn man dann mit HR dieses P_{HR} in P_{DR}

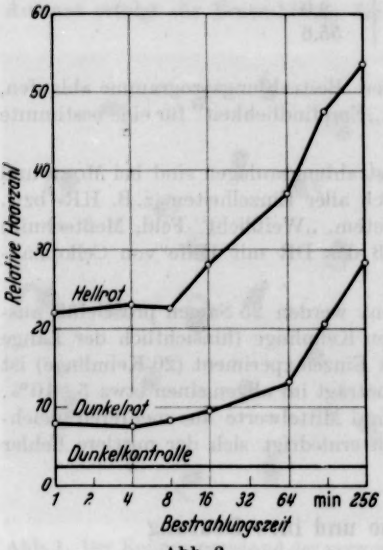


Abb. 2

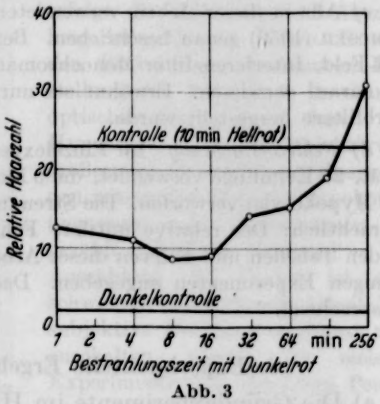


Abb. 3

Abb. 2. Die „Relative Haarzahl" in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit im Standard-Hellrot- bzw. Standard-Dunkelrotfeld

Abb. 3. Die „Reversibilisierung" der Hellrotinduktion durch nachfolgende Dunkelrotbestrahlung verschiedener Dauer. Die Dunkelrotbestrahlung setzt *sofort* nach Beendigung der 10minutigen Hellrot-Vorbestrahlung ein

umwandelt. Anstatt nun mit HR dauernd zu bestrahlen, kann man auch — nach der ersten saturierenden Bestrahlung — abwarten, bis sich einiges P_{HR} nachgebildet hat, und dieses dann mit einer weiteren saturierenden Bestrahlung (z. B. 1 min HR) der Gleichgewichtseinstellung entsprechend umwandeln. Mit Hilfe einiger solcher kurzer „HR-Stöße", die entsprechend über den Zeitraum von 4 Std verteilt sind, kann man, ohne die HER meßbar zu beeinflussen, feststellen, wieviel die NER in einem Zeitraum von 4 Std in unserem genau definierten HR-Feld maximal leistet (Tabelle 2). Die maximale Leistung der NER wird

Tabelle 2

Aufteilung von 6 min Hellrot über einen Zeitraum von 4 Std. (Aus Abb. 2 geht hervor, daß das dem hier verwendeten Hellrot entsprechende Gleichgewicht des Reversiblen Hellrot-Dunkelrot-Pigmentsystems bereits nach 1 min Hellrot praktisch eingestellt sein dürfte.) HR = Hellrot, D = Dunkel, die Zahlen im Bestrahlungsprogramm bedeuten Minuten.

Bestrahlungsprogramm	Relative Haarzahl
6 HR — 240 D	25,3
2 HR — 120 D — 2 HR — 120 D — 2 HR	46,8
2 HR — 60 D — 1 HR — 60 D — 1 HR — 60 D — 1 HR — 60 D — 1 HR	45,8
5 HR — 240 D — 5 HR	42,0
240 HR	51,5
Dunkelkontrolle	2,0

offenbar durch die Geschwindigkeit der Nachbildung von P_{HR} begrenzt. Man sieht, daß fast die gesamte, durch 240 min HR induzierte „Relative Haarzahl" auf die Wirkung der NER zurückgeht. Es bleibt nur ein kleiner Rest, den man der HER zuweisen kann. — Anders dagegen sind die Resultate entsprechender Experimente mit DR. Unser DR wirkt, wie man aus der Abb. 2 (untere Kurve) ersieht, etwas im Sinne von HR, falls man damit bisher unbestrahlte Dunkelkeimlinge bestrahlt. Dies bedeutet: Das der spektralen Energieverteilung unseres DR entsprechende Gleichgewicht des Reversiblen HR-DR-Pigmentsystems liegt weniger extrem auf der Seite des P_{HR} als das Dunkelgleichgewicht. Dadurch wird in einigen Zellen bereits der Schwellenwert an P_{DR} überschritten. Das Gleichgewicht zwischen P_{HR} und seiner Vorstufe aber ist gestört, etwas P_{HR} wird nachgebildet. Bestrahlt man nun mit DR fortgesetzt oder mit „DR-Stößen", so kann man den schwachen „HR-Effekt" des DR in einem bestimmten Ausmaß ähnlich akkumulieren wie den HR-Effekt des HR. Aus der Tabelle 3 geht jedoch hervor, daß nur ein Teil der Wirkung von 4 Std DR auf diese Akkumulation des schwachen „HR-Effekts" zurückgeführt werden kann, ein anderer Teil des Totaleffekts von 240 min DR geht offenbar auf ein anderes

Tabelle 3

Aufteilung von 12 min Dunkelrot über einen Zeitraum von 4 Std. (Aus Abb. 2 geht hervor, daß das dem hier verwendeten Dunkelrot entsprechende Gleichgewicht des Reversiblen Hellrot-Dunkelrot-Pigmentsystems bereits nach 2 min Dunkelrot praktisch eingestellt sein dürfte.) DR = Dunkelrot, D = Dunkel, die Zahlen im Bestrahlungsprogramm bedeuten Minuten.

Bestrahlungsprogramm	Relative Haarzahl
12 DR — 240 D	9,5
4 DR — 120 D — 4 DR — 120 D — 4 DR	18,2
4 DR — 60 D — 2 DR — 60 D — 2 DR — 60 D — 2 DR — 60 D — 2 DR	18,2
5 DR — 240 D — 5 DR	17,8
240 DR	28,0
Dunkelkontrolle	2,0

Reaktionssystem zurück, eben auf die HER. Daß diese HER auch hier offensichtlich auf der Strahlungsabsorption des Blau-Dunkelrot-Pigmentsystems beruht, deutet Tabelle 4 an. Wichtig ist in dieser Tabelle vor allem, daß die Werte für Blau und DR erheblich *höher* liegen als der Wert

Tabelle 4

Versuche mit monochromatischer Strahlung (Interferenzfilter-Monochromatorsystem) gleicher Intensität in Quanten/cm² · sec (Intensität in Energie pro cm² · sec bei $\lambda = 454$ mμ: 2860 erg/cm² · sec). Vor und nach der 4stündigen monochromatischen Bestrahlung wurde je 5 min mit Hellrot vor- bzw. nachbelichtet (Saturierung der Niederenergiereaktion mit Hellrot).

λ_{Max}	Relative Haarzahl
454 mμ	56,1
554 mμ	43,3
660 mμ	50,8
714 mμ	61,8
Kontrolle (nur Vor- und Nachbelichtung)	42,0

für HR, obgleich HR über die NER während der 4 Std monochromatischer Strahlung weitaus am stärksten wirkt, und obgleich der Induktionseffekt der ersten 5 min HR durch die unmittelbar folgende Strahlung von $\lambda = 714$ mμ (also DR) wieder weitgehend reversibilisiert wird.

Das Wirkungsspektrum der HER haben wir für die Haarbildung nicht weiter ausgearbeitet. Wegen der schwierigen Auswertung und der relativ starken Streuung würde das Wirkungsspektrum nicht genau genug werden und den Aufwand nicht lohnen. Dagegen haben wir für eine andere Photomorphose der Keimlinge von *Sinapis alba*, nämlich für das lichtabhängige Wachstum der Kotyledonen, welches ebenfalls von der NER und der HER beeinflußt wird, das genaue Wirkungsspektrum, näherungsweise korrigiert für den Einfluß der NER, aufgestellt (MOHR und LÜNENSCHLOSS 1958). Eine ausführliche Publikation darüber ist in Vorbereitung.

Es wurde bei der Haarbildung versucht, die Intensitätsabhängigkeit der HER wenigstens in groben Zügen festzustellen. Dafür wurde 4 Std lang im Weißlichtfeld (3 „weiße" Leuchtstoffröhren, 2 HNT, 1 HNW, 3000 Lux) bestrahlt. Die Intensitätsabstufung erfolgte mit geeichten Neutralgläsern (Schott und Gen., Mainz). Zu Beginn und am Ende der 240 min erhielten alle Behälter je 5 min die volle Intensität (Saturierung der NER). Das Ergebnis (Tabelle 5) zeigt, daß die HER nur untersucht werden kann, wenn mit relativ hohen Intensitäten über

Tabelle 5

Die Abhängigkeit der Hochenergiereaktion von der Lichtintensität („Weißlicht"feld, 3000 Lux). Zu Beginn und am Ende der Belichtungszeit (4 Std) erhalten alle Behälter je 5 min die volle Intensität (Saturierung der Niederenergiereaktion). HR = Hellrot, D = Dunkel, NER = Niederenergiereaktion.

Beleuchtungsstärke (Lux)	Relative Haarzahl
3	38,6
30	42,8
300	45,9
3000	56,4
Kontrollen:	
5 min HR — 240 min D — 5 min HR	42,0
Maximale Leistung der NER in 4 Std (vgl. Tabelle 2)	45,8

einen längeren Zeitraum hinweg bestrahlt wird. (Man muß allerdings beachten, daß dem hier verwendeten „Weißlicht" das bei der HER am stärksten wirksame DR weitgehend fehlt.)

c) Die Deutung der Reversibilisierungskurve (Abb. 3): Durch 10 min HR wird in einer bestimmten Zahl von Epidermiszellen der Schwellenwert an P_{DR} überschritten, die Haarbildung also induziert. Wird nun anschließend an das HR mit DR bestrahlt, so wird P_{DR} wieder in P_{HR} rückverwandelt, und zwar so lange, bis das Gleichgewicht $P_{HR} \rightleftharpoons P_{DR}$ erreicht ist, das der spektralen Energieverteilung unseres DR entspricht (vgl. Abb. 2). Es ist klar, daß die Reversibilisierung nicht bis zur „Dunkelkontrolle" gehen kann, wenn wir ein DR verwenden, das an sich schon, allein geboten, einen leichten „HR-Effekt" zeigt. Der Anstieg der Kurve bei längerer Bestrahlung als 16 min ist, genau wie in Abb. 2, auf die kombinierte Wirkung der NER und der HER zurückzuführen.

Bestrahlten wir 240 min mit HR (Relative Haarzahl 54,0) und gaben gleich anschließend 8 min DR, so wurde die relative Haarzahl auf 25,4 reduziert. Man würde vielleicht zunächst eine niedrigere Zahl erwarten, jedoch muß man damit rechnen, daß nach 4 Std ein Teil der HR-Induktion nicht mehr reversibel ist, weil sich das Vorhandensein von P_{DR}

bereits auf den Stoffwechsel ausgewirkt hat. Gaben wir das Bestrahlungsprogramm 240 min HR — 8 min DR — 5 min HR, so erhielten wir die Relative Haarzahl 57,0.

d) Die weitgehende Unabhängigkeit von Nieder- und Hochenergiereaktion: Sind die unmittelbar auf die Strahlungsabsorption folgenden Reaktionsschritte bei den beiden Reaktionssystemen verschieden, obgleich späterhin beide Reaktionssysteme zu denselben Photomorphosen führen, so darf die Zahl der über die HER induzierten Haare nicht beeinflußt werden, wenn mit dem Reversiblen HR-DR-Pigmentsystem operiert wird. Dies ist tatsächlich so (Tabelle 6).

Tabelle 6

Die Wirkung einer kurzen Zusatzbestrahlung mit Hellrot bzw. mit Hellrot gefolgt von Dunkelrot, nach einer langen Bestrahlung mit Dunkelrot. Der durch die lange Dunkelrotbestrahlung induzierte Effekt, der zu einem gewissen Prozentsatz auf die Hochenergiereaktion zurückgeht (vgl. Tabelle 3), wird durch die Zusatzbestrahlung nicht signifikant beeinflußt. HR = Hellrot, DR = Dunkelrot, die Zahlen im Bestrahlungsprogramm bedeuten Minuten.

Bestrahlungsprogramm	Relative Haarzahl
240 DR	28
240 DR — 5 HR	62
240 DR — 5 HR — 8 DR	32

e) Weitere Teste für die Brauchbarkeit der Theorie: Gab man nach 5 min DR (Relative Haarzahl 8,6) sofort 5 min HR, so erhielten wir eine Relative Haarzahl von 25,1, also praktisch den Wert, den 5 min HR allein induzieren. Dies war zu erwarten, denn es stellt sich eben das dem HR entsprechende Gleichgewicht ein. Das vorher eingestellte DR-Gleichgewicht spielt keine Rolle mehr. Gab man aber 5 min DR und erst nach 240 min Dunkelheit die 5 min HR, so addierten sich die Einzeleffekte weitgehend (Relative Haarzahl 32,5), denn während der Dunkelperiode ist das durch das DR umgewandelte P_{HR} nachgebildet worden. Bestrahlten wir mit 5 min HR, unmittelbar gefolgt von 10 min DR, so ergab sich die Relative Haarzahl 9,5. Wie schon oben erläutert (vgl. Abb. 3), wird unter diesen Bedingungen die ursprüngliche HR-Induktion praktisch bis zu dem durch die spektrale Energieverteilung unseres DR bestimmten Zustand des P_{HR}-P_{DR}-Gleichgewichts reduziert. Gaben wir dann zusätzlich zu der Bestrahlung 5 min HR — 10 min DR nach einer Dunkelperiode von 240 min 5 min HR, so resultierte eine Relative Haarzahl von 35,4. Die ursprüngliche Induktion und die Induktionswirkung der zweiten Bestrahlung addieren sich also, wie zu erwarten ist, wenn man die Möglichkeit der Nachbildung von P_{HR} im Dunkeln berücksichtigt.

f) Der Einfluß der Temperatur auf die Nachbildung von P_{HR} (Tabelle 7): Wir nehmen also an, daß die allmähliche Restaurierung der „HR-Empfindlichkeit" nach einer saturierenden Bestrahlung im HR-Feld darauf beruht, daß P_{HR} aus seiner Vorstufe nachgebildet wird (in einer „Dunkelreaktion"!). Wenn diese Vorstellung richtig ist, so dürfte der Restaurierungsvorgang durch einen Temperaturwechsel zu beeinflussen sein: Bei niedriger Temperatur muß die Restaurierung verzögert sein! Dies läßt sich tatsächlich mit folgender Anordnung leicht nachweisen: Es wird zweimal mit je 5 min HR bestrahlt. Die beiden Bestrahlungen sind durch eine Dunkelperiode von 240 min getrennt. Die Temperatur während dieser Dunkelperiode wird variiert. (Obgleich man annehmen kann, vgl. z. B. Borthwick u. Mitarb. 1954, daß die Temperatur während der HR-Bestrahlung auf das Ausmaß der Induktion keinen Einfluß hat, wurden die Gefäße doch 15 min vor der zweiten Bestrahlung in 25° C gebracht, um wenigstens einen gewissen Temperaturausgleich herzustellen.) Einen erheblichen Einfluß der 4stündigen Temperaturbehandlung auf die Länge der Hypokotyle konnten wir *nicht* feststellen. Freilich ist der Befund (Tabelle 7), daß niedrige Temperatur die Restaurierung der „HR-Empfindlichkeit" hemmt, kein direkter Beweis dafür, daß das allgemeine Schema des Reversiblen HR-DR-

Tabelle 7

Der Einfluß der Temperatur auf die Nachbildung von P_{HR}. Es wird zweimal mit je 5 min Hellrot bestrahlt. Die beiden Bestrahlungen sind durch eine Dunkelperiode von 240 min getrennt. Die Resultate lassen sich leicht damit erklären, daß die Temperatur während dieser Dunkelperiode die Geschwindigkeit der Nachbildung von P_{HR} bestimmt.

Temperatur während der Dunkelperiode[1] (240 min)	Bestrahlungsprogramm[2]	Relative Haarzahl
25° C	—	2,3
3° C	—	2,3
25° C	5 HR — 240 D	21,0
1° C	5 HR — 240 D	22,7
25° C	5 HR — 240 D — 5 HR	38,3
1° C	5 HR — 240 D — 5 HR	22,5

[1] Die angegebene tiefe Temperatur ist die Kühlschranktemperatur in der unmittelbaren Umgebung der Gefäße. Wir haben gemessen, wie schnell sich die Temperatur in den Gefäßen (Temperatur des freien Wassers) der Außentemperatur im Kühlschrank angleicht. Bei einer Ausgangstemperatur von 25° C und einer Kühlschranktemperatur von 3° C haben wir z. B. nach 15 min 11° C, nach 30 min 7° C und nach 60 min 5° C gemessen.

[2] HR = Hellrot, D = Dunkel, die Zahlen im Bestrahlungsprogramm bedeuten Minuten.

Pigmentsystems richtig ist. Wir wollen lediglich zeigen, daß die Resultate der Temperaturexperimente mit diesem Schema in vollem Einklang stehen.

4. Diskussion

a) In dieser Arbeit wurden junge Dunkelkeimlinge benützt und an ihnen der Einfluß relativ kurzer Belichtungen auf ein bestimmtes Differenzierungsgeschehen, nämlich auf die Bildung von Haaren aus den Epidermiszellen des Hypokotyls, studiert. Wir haben zeigen können, daß sich die Ergebnisse dieser Experimente am einfachsten dadurch deuten lassen, daß man mit der Beteiligung zweier Photo-Reaktionssysteme rechnet: Reversibles Hellrot-Dunkelrot-Reaktionssystem und Blau-Dunkelrot-Reaktionssystem. Dem Reversiblen Hellrot-Dunkelrot-Reaktionssystem liegt das Reversible Hellrot-Dunkelrot-Pigmentsystem zugrunde, das schon in der Einleitung kurz skizziert wurde. Über dieses System ist in den vergangenen Jahren viel berichtet und diskutiert worden (z. B. BORTHWICK u. Mitarb. 1952, 1954; TOOLE u. Mitarb. 1955; DOWNS 1955; MOHR 1956; HENDRICKS u. Mitarb. 1956; WITHROW u. Mitarb. 1957; SIEGELMAN und HENDRICKS 1957; MOHR 1957). Dieses System scheint in der Photomorphogenese der grünen Pflanzen eine ähnlich fundamentale Bedeutung zu haben wie das Chlorophyll in der Photosynthese. Hinsichtlich der bisher beschriebenen Details muß auf zusammenfassende Darstellungen, z. B. BORTHWICK und HENDRICKS (1959) oder MOHR (1959), verwiesen werden.

Im Gegensatz dazu ist die Hochenergiereaktion, die wir auf Grund der Zweigipfeligkeit ihres Wirkungsspektrums „Blau-Dunkelrot-Reaktion" nennen wollen und der die Strahlungsabsorption in einem „Blau-Dunkelrot-Pigmentsystem" zugrunde liegen dürfte, erst kürzlich aufgefunden worden, besonders bei der Untersuchung des Lichteinflusses auf die Bildung von Anthocyan (MOHR 1957; SIEGELMAN und HENDRICKS 1957, 1958). MOHR (1957) konnte dann zeigen, daß auch die Hemmung des Längenwachstums des Hypokotyls bei *Sinapis alba*-Keimlingen durch Licht wenigstens zum Teil auf dieses Reaktionssystem zurückgeht. Damit war schon ein Hinweis dafür vorhanden, daß die HER weiter verbreitet und vielleicht ebenfalls universell wichtig ist. Die HER ist im Labor nicht leicht nachweisbar, da man zu ihrem Nachweis wirksame Strahlung von relativ hoher Intensität über eine längere Zeit hinweg einstrahlen muß. Für einen photobiologisch korrekten Nachweis dieses Reaktionssystems braucht man also weitgehend monochromatische Strahlung von relativ hoher Intensität. Diese aber steht selten zur Verfügung (vgl. MOHR und SCHOSER 1959). Dies ist wohl einer der Gründe, weshalb dieses Reaktionssystem bisher nicht erfaßt wurde. Eine eingehende Diskussion des Blau-Dunkelrot-Reaktionssystems (einschließlich der Vermutungen hinsichtlich der chemischen Natur des

Blau-Dunkelrot-Pigmentsystems) ist für eine folgende Arbeit, in der über den Lichteinfluß auf das Wachstum der Kotyledonen der jungen Keimlinge von *Sinapis alba* berichtet werden soll, vorgesehen.

b) Die vorliegende Arbeit zeigt, daß nicht nur die früher (MOHR 1957) beschriebenen Photomorphosen der jungen Keimlinge von *Sinapis alba* (Anthocyanbildung und Etiolementverhinderung des Hypokotyls) von denselben Photo-Reaktionssystemen gesteuert werden, sondern daß eben dieselben Reaktionssysteme auch die Bildung von Haaren aus gewissen Epidermiszellen des Hypokotyls beeinflussen. Unsere Vorstellung scheint also berechtigt zu sein, daß die verschiedenartigen, von uns leicht registrierbaren Photomorphosen nur Manifestationen ein und derselben fundamentalen Änderung im Stoffwechsel derjenigen Zellen sind, die diese Reaktionssysteme enthalten. Obwohl in den beiden Reaktionssystemen die ersten chemischen Reaktionsschritte, die auf die Strahlungsabsorption folgen, verschieden sein müssen (die Systeme arbeiten ja weitgehend unabhängig voneinander!), so ist man doch zu der Vorstellung genötigt, daß auf beiden Wegen letztlich *dieselbe* Stoffwechseländerung entsteht, deren unmittelbar faßbarer Ausdruck die spezifischen Photomorphosen sind. Die Art der Reaktion der Zellen (also die Art der Photomorphose) hängt dann von der Organzugehörigkeit der Zellen ab.

c) In dieser Arbeit wird ein Beitrag, zunächst in mehr qualitativer Form, zur Theorie des Reversiblen Hellrot-Dunkelrot-Pigmentsystems geliefert (vgl. die Einleitung). Eine korrekte und möglichst quantitative Ausarbeitung muß einer künftigen Arbeit vorbehalten bleiben. Es handelt sich hier bei *Sinapis alba* im wesentlichen um die Lösung der Frage, wieviel dieses System während einer bestimmten Bestrahlungszeit (z.B. 4 Std HR-Standard-Feld) maximal leisten kann. Wir haben gesehen, daß man die hierbei beobachteten Verhältnisse am einfachsten mit der Annahme erklären kann, daß die Nachbildung von P_{HR} aus seiner Vorstufe unter diesen Umständen der begrenzende Faktor für die Anhäufung von P_{DR} ist. Diese Bildung von P_{HR} scheint zunächst, unter den von uns gewählten Bedingungen wenigstens, eine „Dunkelreaktion" zu sein, d.h. ein unmittelbarer Einfluß des Lichts auf diese Reaktion liegt, zumindest bei der Verwendung von HR, nicht vor (Tabelle 2 läßt vermuten, daß die Nachbildung im Dauerlicht praktisch dieselbe ist wie in Dunkelheit, die nur durch wenige kurze „HR-Stöße" unterbrochen ist). Die Frage, ob die Nachbildung von P_{HR} in irgendeiner Weise strahlungsabhängig ist oder nicht, muß jedoch noch offen bleiben. Es könnte sein, daß die HER einen Einfluß auf die Bildung von P_{HR} hat, oder daß die Nachbildung von P_{HR} durch die von P_{DR} ausgehenden Reaktionen mit gesteuert wird. Nimmt man z.B. an, daß bei längerer Dauer der Belichtung die Nachbildung von P_{HR} zuweilen gehemmt sein

kann, so lassen sich vielleicht die Ergebnisse von ISIKAWA (1954) erklären, wonach die von ihm untersuchten Samen im Dauerlicht schlechter keimen als bei kürzeren täglichen Belichtungszeiten. Auch andere Fälle, wo durch Dunkelperioden getrennte „Lichtstöße" stärker wirken als Dauerlicht (z.B. BINET 1956, ISIKAWA und OOHUSA 1956), lassen sich so erklären. — Wie wir in dieser Arbeit gesehen haben, verhindert eine starke Erniedrigung der Temperatur die Nachbildung von P_{HR} praktisch ganz.

In vielen Fällen — vor allem dann, wenn über eine längere Zeit hinweg kontinuierlich mit Strahlung, die viel HR enthält, bestrahlt wird —, wird also nicht die Zahl der eingestrahlten Quanten der limitierende Faktor für das Ausmaß der beobachtbaren Reaktion sein, sondern die Geschwindigkeit der Nachbildung von P_{HR} wird die Menge an erzielbarem P_{DR} bestimmen. Wenn die Verhältnisse so liegen wie bei den *Sinapis alba*-Keimlingen, dann sollte offenbar bei korrekten, quantitativen Vergleichen der Wirksamkeit verschiedener Wellenlängen die Bestrahlungszeit möglichst so kurz gehalten werden, daß die Nachbildung von P_{HR} während der Bestrahlungszeit keine Rolle spielt. Dies ist ein wichtiger allgemeiner Gesichtspunkt für die Aufstellung von Wirkungsspektren. Man kann erwarten, daß bei verschiedenen Organismen die Geschwindigkeit der Nachbildung etwas verschieden sein wird.

Wir haben gesehen, daß der Reversibilisierungseffekt des DR keineswegs um so größer wird, je länger man DR einstrahlt, sondern daß aus zwei Gründen (1. gewisse Akkumulation des schwachen „HR-Effekts" des DR, 2. Einfluß der HER, wobei DR *gleichsinnig* wirkt wie HR bei der NER) der Reversibilisierungseffekt zurückgeht, wenn man über eine hierfür optimale Zeit hinaus bestrahlt (vgl. Abb. 3). Dies ist früher wohl schon beobachtet worden (z.B. HENDRICKS und BORTHWICK 1954; DOWNS 1956; CATHEY und BORTHWICK 1957), konnte aber nicht gedeutet werden.

Diese Vorstellungen über die Nachbildung von P_{HR} deuten also die Befunde (z.B. auch BORTHWICK 1957; TOOLE u. Mitarb. 1958a, b) über die Ersetzbarkeit längerer Bestrahlungszeiten durch kurze saturierende „Lichtstöße", die durch längere Dunkelperioden getrennt sind. Ein sehr gutes Beispiel für die Richtigkeit dieser Vorstellungen hinsichtlich des Reversiblen HR-DR-Pigmentsystems und hinsichtlich der Nachbildung von P_{HR} liefern auch die Resultate von Experimenten über die Samenkeimung bei *Paulownia tomentosa* (TOOLE u. Mitarb. 1958a). Eine Belichtung dieser obligaten Lichtkeimer mit einer HR-Dosis, die für 100% Keimung bei *Lepidium*-Samen ausreicht, bewirkt hier praktisch nichts. Wird jedoch für 48 Std Dauerlicht gegeben, so ist die Keimung induziert. Das Dauerlicht kann durch mehrere „Lichtstöße", über den entsprechenden Zeitraum verteilt, ersetzt werden. Werden nach 48 Std Dauerlicht ein paar Minuten DR gegeben, so tritt keine Keimung ein. Gibt man nach dem DR wieder einige Minuten HR, so tritt volle Keimung ein. Wir halten folgende Deutung für die derzeit richtige: Im Verlauf von 48 Std wird bei der dauernden Umwandlung so viel P_{HR} nachgebildet,

daß der Schwellenwert an P_{DR} bei den meisten Samen erreicht wird. Die zu Beginn der Belichtung vorliegende Menge von P_{HR} reicht dagegen nicht zur Erzielung des Schwellenwertes an P_{DR} aus. Nach 48 Std Licht ist also der Schwellenwert an P_{DR} überschritten. Wird nun mit DR bestrahlt, so wird ein Großteil dieses P_{DR} wieder in P_{HR} verwandelt und der Schwellenwert unterschritten. Bestrahlung mit HR wandelt das P_{HR} wieder entsprechend in P_{DR} um, wodurch der Schwellenwert wieder überschritten wird.

d) Schließlich sei noch darauf hingewiesen, daß die Verhältnisse, die wir für P_{HR}, seine Umwandlung in P_{DR} und seine Nachbildung aus der Vorstufe erschlossen haben, in mancherlei Hinsicht sehr ähnlich sind wie die neuerdings entdeckten Zusammenhänge zwischen der Bildung von Protochlorophyll und Chlorophyll a (vgl. z. B. Virgin 1955). Freilich ist die photochemische Reaktion in diesem Fall nicht reversibel.

Summary

In an earlier paper (Mohr 1957) it was described that the formation of anthocyanin and the inhibition of lengthening of the hypocotyl of dark grown seedlings *(Sinapis alba)* is governed by the action of two photomorphogenic action systems. The one system is the well known "reversible red far-red reaction system" (low energy reaction), the other one is a high energy reaction system which can be called — in reference to the action peaks in the far-red and in the blue — "blue far-red reaction system". The chemical nature of the absorbing pigments is still unknown.

In the present paper another photomorphogenic response of the young dark grown seedlings of *Sinapis alba*, the light dependent formation of unicellular hairs from epidermal cells of the hypocotyl, has been investigated. It has been shown that this response is also governed by these two reaction systems. These systems have been physiologically separated. Experiments have been presented which evaluate the importance of the assumption that the red absorbing pigment of the reversible red far-red pigment system is reformed from a precursor when the pigment present before irradiation is transformed into the far-red absorbing pigment by an irradiation with red.

Herrn Prof. Dr. E. Bünning danke ich für die beständige Unterstützung meiner Arbeit. Fräulein K. Axt und Fräulein R. Zimmer danke ich für ihre Hilfe bei der Durchführung und Auswertung der Experimente. Auch der Deutschen Forschungsgemeinschaft bin ich zu großem Dank verpflichtet.

Literatur

Binet, P.: Lumière et germination de *Zygophyllum album* L. C. R. Acad. Sci. (Paris) **243**, 397—399 (1956). — Borthwick, H. A.: Light effects on tree growth and seed germination. Ohio J. Sci. **57**, 357—364 (1957). — Borthwick, H. A., and S. B. Hendricks: Effects of radiation on growth and development. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. 16. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer. (In Vorbereitung.) — Borthwick, H. A., S. B. Hendricks, M. W. Parker,

E. H. Toole and V. K. Toole: A reversible photoreaction controlling seed germination. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **38**, 662—666 (1952). — Borthwick, H. A., S. B. Hendricks, E. H. Toole and V. K. Toole: Action of light on lettuce — seed germination. Bot. Gaz. **115**, 205—225 (1954). — Cathey, H. M., and H. A. Borthwick: Photoreversibility of floral initiation in *Chrysanthemum*. Bot. Gaz. **119**, 71—76 (1957). — Downs, R. J.: Photoreversibility of leaf and hypocotyl elongation of dark grown red kidney bean seedlings. Plant Physiol. **30**, 468—473 (1955). — Photoreversibility of flower initiation. Plant Physiol. **31**, 279—284 (1956). — Hendricks, S. B., and H. A. Borthwick: Time dependencies in photoperiodism. 8. Congr. Int. de Botanique, Sect. 11 et 12, p. 323—324, 1954. — Hendricks, S. B., H. A. Borthwick and R. J. Downs: Pigment conversion in the formative responses of plants to radiation. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **42**, 19—26 (1956). — Isikawa, S.: Light-sensitivity against the germination. I. „Photoperiodism" of seeds. Bot. Mag. (Tokyo) **67**, 51—56 (1954). — Isikawa, S., and T. Oohusa: Effects of light upon the germination of spores of ferns. II. Two light-periods of *Dryopteris crassirhizoma* Nakai. Bot. Mag. (Tokyo) **69**, 132—137 (1956). — Liverman, J. L., and J. Bonner: The interaction of auxin and light in the growth response of plants. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **39**, 905—916 (1953). — Liverman, J. L., N. P. Johnson and L. Starr: Reversible photoreaction controlling expansion of etiolated bean leaf disks. Science **121**, 440—441 (1955). — Mohr, H.: Die Beeinflussung der Keimung von Farnsporen durch Licht und andere Faktoren. Planta (Berl.) **46**, 534—551 (1956). — Der Einfluß monochromatischer Strahlung auf das Längenwachstum des Hypokotyls und auf die Anthocyanbildung bei Keimlingen von *Sinapis alba* L. (= *Brassica alba* Boiss.). Planta (Berl.) **49**, 389—405 (1957). — Photomorphogenetische Reaktionssysteme in Pflanzen, Teil 1. In: Ergebnisse der Biologie, Bd. 22. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer. (Im Druck.) — Mohr, H., u. A. Lünenschloss: Weitere Studien zur Photomorphogenese der Keimlinge von *Sinapis alba* L. Naturwiss. **45**, 578—579 (1958). — Mohr, H., u. G. Schoser: Eine Interferenzfilter-Monochromatoranlage für photobiologische Zwecke. Planta (Berl.) **53**, 1—17 (1959). — Siegelman, H. W., and S. B. Hendricks: Photocontrol of anthocyanin formation in turnip and red cabbage seedlings. Plant Physiol. **32**, 393—398 (1957). — Photocontrol of anthocyanin synthesis in apple skin. Plant Physiol. **33**, 185—190 (1958).— Toole, E. H., V. K. Toole, H. A. Borthwick and S. B. Hendricks: Photocontrol of *Lepidium* seed germination. Plant Physiol. **30**, 15—21 (1955). — Toole, E. H., V. K. Toole, H. A. Borthwick, S. B. Hendricks and R. J. Downs: Action of light on germination of seeds of *Paulownia tomentosa*. Plant. Physiol. **33**, Suppl. XXIII (1958a). — Toole, V. K., H. A. Borthwick, E. H. Toole and A. G. Snow: The germination response of seeds of *Pinus taeda* to light. Plant Physiol. **33**, Suppl. XXIII (1958b). — Virgin, H. I.: Protochlorophyll formation and greening in etiolated barley leaves. Physiol. Plantarum (Cph.) **8**, 630—643 (1955). — Withrow, R. B., W. H. Klein and V. Elstad: Action spectra of photomorphogenic induction and its photoinactivation. Plant Physiol. **32**, 453—462 (1957)

Dr. Hans Mohr,
Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstr. 5

Planta, 53, 125—133 (1959)

Aus dem wissenschaftlichen Laboratorium der Chirurgischen Klinik
der Universität München

ÜBER DIE AMINOXYDASE VON ERBSENKEIMLINGEN UND IHRE BEDEUTUNG FÜR DIE KEIMUNG*

Von

E. Werle, G. Beaucamp und V. Schirren

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 17. Januar 1959)

Keimlinge von Erbsen enthalten eine hochaktive Aminoxydase (AO)**, die im ruhenden Samen nicht nachweisbar ist[10,11]. Wir suchten zu entscheiden, ob das Ferment im Samen vorgebildet ist und bei der Keimung nur freigelegt wird, wie etwa die α-Amylase der Gerste[1,4], oder ob es neu synthetisiert wird. Ferner untersuchten wir, ob das Eintreten der Keimung und das Wachstum des Keimlings von der AO-Bildung abhängen. Es wurde auch untersucht, ob und wann Substrate der AO im Erbsenkeimling vorkommen.

A. Methodisches

1. Gewinnung von Erbsenkeimlingen. Die trockenen Erbsensamen wurden über Nacht bei Zimmertemperatur in reinem Leitungswasser vorgequollen und in reinem Quarzsand angesät. Es wurden verschiedene Erbsensorten verwendet.***

Substanzen, deren Einfluß auf die Keimung und AO-Bildung untersucht werden sollten, wurden dem Quellungs- und Gießwasser in bestimmten Konzentrationen zugesetzt.

2. Bestimmung der Aminoxydaseaktivität. Die Keimlinge wurden geerntet, mit Wasser vom Sand befreit und mit einem Tuch getrocknet. Zur Untersuchung einzelner Pflanzenteile wurden diese abgetrennt,

* Teilweise vorgetragen auf dem IV. Internationalen Kongreß für Biochemie, Wien 1958. Supplement to International Abstracts of Biological Sciences S. 140.

** Für „Aminoxydase" wird im folgenden Text die Abkürzung „AO" verwendet.

*** Saaterbsen aus dem Staatlichen Pflanzeninstitut München: „Überreich", Schalenerbsen, Stammgut E 55 Saatgutwirtschaft Ebenroth Haubner, Süddeutsche Pflanzenzucht GmbH; „Violetta", Futtererbse HZ. Gg. Fuchs, Weichseldorf L.W.A. Regensburg; „Senator", Markerbsen anerk. Stufe, Stammsaat E 1955 Auf. Hahn Walkershofen (Haubner, Süddeutsche Pflanzenzucht); „Saxa", Schalerbsen E 298 Otto Förster, Gut Häringsdorf, Joh. Thom. Hoffmann KG, Samenzucht Kleinsendelbach über Erlangen. Saaterbsen der Fa. Steiner, München: „Kleine Rheinländerin".

gewogen und je Gramm Frischgewicht mit 2 ml (bei einigen Versuchen auch mit 1 ml) 0,066 molarem Phosphatpuffer p_H 7,0 homogenisiert. Durch 10 min langes Zentrifugieren bei 5000 g und anschließendes Filtrieren durch Faltenfilter (Schleicher & Schüll Nr. 588) wurde ein Extrakt gewonnen, dessen AO-Aktivität an Hand des O_2-Verbrauches manometrisch oder an Hand der NH_3-Entwicklung bei Gegenwart von AO-Substrat bestimmt wurde.

a) Messung des O_2-Verbrauches. Ansätze in den Warburg-Gefäßen. *Hauptraum:* 0,5 ml Extrakt, 2,0 ml 0,066 molarer Phosphatpuffer p_H 7,0; *Zentralgefäß:* 0,25 ml 10%ige KOH; *Kipper:* 0,5 ml Substratlösung (Cadaverin oder Histamin, Endkonzentration meist 0,01 molar, selten 0,02 oder 0,005 molar); 37°, O_2-Atmosphäre.

Zur Berechnung der AO-Aktivität wurden nur Werte im Bereich konstanter Reaktionsgeschwindigkeit bei Substratsättigung herangezogen. Der Sauerstoffverbrauch von Kontrollansätzen ohne Ferment wurde in Anrechnung gebracht.

b) Messung der NH_3-Entwicklung. Die quantitative Bestimmung des bei der AO-Reaktion freigesetzten NH_3 erfolgte nach Conway[2]: Die unter a) beschriebenen Ansätze wurden durch Zugabe von 0,5 ml 1%iger KCN-Lösung gestoppt. Das Reaktionsgemisch wurde aus dem Hauptraum des Warburg-Gefäßes in den Hauptraum eines Conway-Gefäßes quantitativ überführt. Nach Vorlage von 1 ml 0,01 n H_2SO_4 in das Zentralgefäß und Zugabe von 2 ml ges. Sodalösung zum Reaktionsgemisch wurde bei gut verschlossenem Conway-Gefäß 12 Std bei Zimmertemperatur destilliert. Die Rücktitration der H_2SO_4 erfolgte mit 0,004 n NaOH unter Verwendung des Indicatorgemisches Methylenblau/Methylorange.

c) Definition der Einheit der Aminoxydase-Aktivität (AE). 1 AE ist diejenige Fermentmenge, die in 10 min unter den oben angegebenen Bedingungen 1 μl O_2 verbraucht.

3. Bestimmung von AO-Substraten in Erbsenkeimlingen. 5 g Samen oder Keimlinge wurden mit 5 ml 10%iger Trichloressigsäure 1 min homogenisiert und 10 min zentrifugiert. Der Rückstand wurde nochmals mit der gleichen Menge Trichloressigsäure homogenisiert und zentrifugiert. Die vereinigten eiweißfreien Zentrifugate wurden 5—6mal mit der dreifachen Menge Äther ausgeschüttelt. Die schwach saure Lösung wurde mit dem Föhn auf etwa 2 ml eingeengt, mit NaOH auf p_H 7,0 eingestellt und schließlich auf genau 2,5 ml aufgefüllt.

4. Die Bestimmung des Proteingehaltes der Erbsenhomogenate und Extrakte erfolgte an Hand der Biuret-Methode[5,8].

5. Ermittlung der Wachstumshemmung eines Keimlings. Es wurde die Größe des gehemmten Keimlings mit der Größe eines normal

gewachsenen Keimlings verglichen. Hat z. B. ein in seinem Wachstum gehemmter 5 Tage alter Keimling die Größe eines 1 Tag alten normalen Keimlings, so ist sein Wachstum zu 80% gehemmt.

B. Das zeitliche Auftreten der Aminoxydase im Erbsenkeimling

Wie die Abb. 1 veranschaulicht, wird die AO nach 24 Std, vom Beginn der Quellung des trockenen Samens an gerechnet, nachweisbar. Die AO-Aktivität steigt — bezogen auf 1 ml Homogenat — bis zum Maximalwert am 6. Tag steil an, fällt dann in wenigen Tagen auf etwa die Hälfte des Höchst-

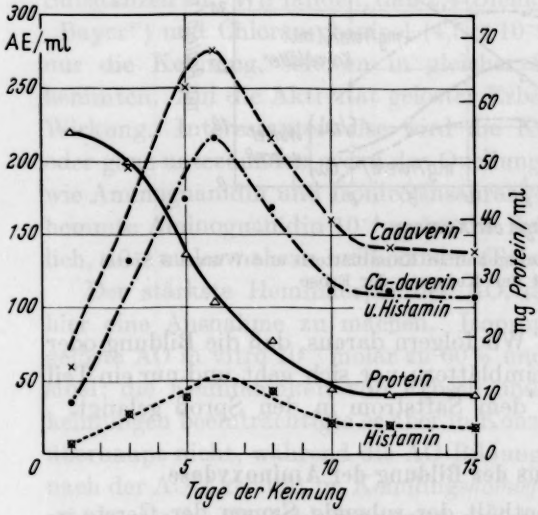


Abb. 1. AO-Aktivität und Proteingehalt von Erbsenkeimlingen im Verlauf der Keimung

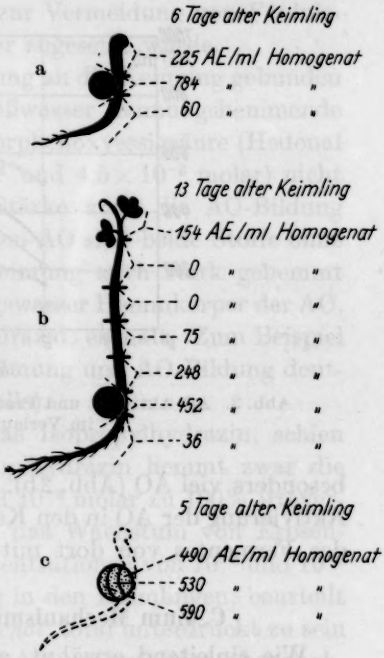


Abb. 2. Lokalisation der Aminoxydase im Erbsenkeimling

wertes ab, um sich dann weiterhin langsam zu verringern. Das Verhältnis der Aktivität der Extrakte gegenüber Cadaverin und Histamin schwankt während der Keimung nur zwischen 5—6:1. Der absolute Substratumsatz liegt bei Cadaverinangebot wesentlich höher als bei Histamin. Bei gleichzeitigem Angebot von Cadaverin und Histamin wird der Cadaverinabbau durch Histamin kompetitiv gehemmt (siehe Abb. 1).

Der Proteingehalt der Keimlinge fällt im Verlauf der Keimung und besonders stark in der Zeit der größten AO-Aktivitätszunahme ab. So enthalten 5 Tage alte Keimlinge nur etwa halb so viel Protein wie die gequollenen Samen (Abb. 1). Diese „Abnahme" des Proteingehaltes ist zum größten Teil durch die mit der Keimung und Quellung verbundene starke Wasseraufnahme bedingt.

Bei der AO-Bestimmung in den einzelnen Teilen der Keimlinge (Abb. 2) wurde in Übereinstimmung mit Kenten und Mann[7] festgestellt, daß die höchste AO-Aktivität in den Keimblättern sich findet (Abb. 2a und Abb. 3). Wie Abb. 2c erkennen läßt, ist die AO in den Keimblättern praktisch gleichmäßig verteilt. Mit Sicherheit ist sie in der Umgebung des Embryos nicht konzentrierter als im übrigen Keimblatt. Während in der Wurzel stets nur eine geringe AO-Menge zu finden war, enthält der dem Keimblatt zunächst gelegene Sproßabschnitt

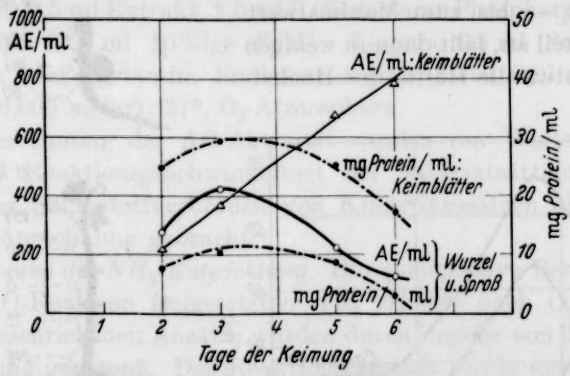


Abb. 3. AO-Aktivität und Proteingehalt in Keimblättern und Wurzel + Sproß im Verlauf der Keimung der Erbse

besonders viel AO (Abb. 2b). Wir folgern daraus, daß die Bildung oder Aktivierung der AO in den Keimblättern vor sich geht und nur ein Teil des Fermentes von dort mit dem Saftstrom in den Sproß gelangt.

C. Zum Mechanismus der Bildung der Aminoxydase

Wie einleitend erwähnt, enthält der ruhende Samen der Gerste α-Amylase in inaktiver Form. Das Ferment kann durch Inkubieren eines Breies aus gemahlener Gerste mit proteolytischen Enzymen wie Trypsin oder reduzierenden Substanzen wie Cystein oder Schwefelwasserstoff freigelegt werden[1, 4]. Eine gleichartige Behandlung eines aus gemahlenen Erbsensamen hergestellten Breies führte in keinem Fall zu einer Freilegung oder Aktivierung der AO. Die Aktivität der AO von Keimlingsextrakten geht nach unseren Feststellungen durch Einleiten von H_2S vollkommen, durch Behandeln mit Trypsin, Pepsin oder Lab weitgehend verloren; durch Ascorbinsäure und Cystein wird sie schwach gehemmt; durch Glutathion wird sie nicht beeinflußt.

Für eine Neusynthese der AO während der Keimung spricht unser Befund, daß die AO nur in Gegenwart von Sauerstoff gebildet wird. Entzieht man den schon keimenden Erbsen den Sauerstoff, indem man sie in eine sauerstoffreie Stickstoffatmosphäre bringt, so bleibt das

Wachstum der Keimlinge stehen, und die schon angelaufene AO-Bildung wird gestoppt. Verbleiben die Keimlinge länger als 2 Tage in der Stickstoffatmosphäre, so sind sie durch erneutes Zurückbringen in die O_2-Atmosphäre zu Wachstum und AO-Bildung nicht mehr befähigt, sie sind offenbar abgestorben. Der Versuch, den Sauerstoff durch Adenosintriphosphorsäurezusatz zum Quellungswasser (0,001 molar) zu ersetzen, verlief negativ. Bei normal keimenden Erbsen hatte ATP auf Keimungsgeschwindigkeit und AO-Bildung keinen Einfluß, ebenso Terramycin, das bei den Versuchen in N_2-Atmosphäre zur Vermeidung von Fäulnisvorgängen dem Quellungs- und Gießwasser zugesetzt wurde.

Zur Klärung der Frage, ob die AO-Bildung an die Keimung gebunden ist, setzten wir dem Quellungs- und Gießwasser keimungshemmende Substanzen zu. Wir fanden, daß 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (Hedonal „Bayer") und Chloramphenicol ($4{,}5 \times 10^{-4}$ und $4{,}5 \times 10^{-3}$ molar) nicht nur die Keimung, sondern in gleicher Stärke auch die AO-Bildung hemmten. Auf die Aktivität gelöster Erbsen-AO sind beide Stoffe ohne Wirkung. Interessanterweise wird die Keimung auch stark gehemmt oder ganz unterbunden, wenn das Quellungswasser Hemmkörper der AO, wie Aminoguanidin und Isonicotinsäurehydrazid, enthält. Zum Beispiel hemmte Aminoguanidin 10^{-4} molar die Keimung und AO-Bildung deutlich, 10^{-2} molar nahezu vollkommen (Tabelle).

Der stärkste Hemmkörper der AO, das Isopropylhydrazin, schien hier eine Ausnahme zu machen. Isopropylhydrazin hemmt zwar die gelöste AO in vitro 10^{-7} molar zu 60% und 10^{-6} molar zu 100% irreversibel; die Keimfähigkeit von Erbsen und das Wachstum von Erbsenkeimlingen beeinträchtigte es aber in Konzentrationen von 10^{-4} und 10^{-3} überhaupt nicht, während die AO-Bildung in den Keimlingen, beurteilt nach der AO-Aktivität im Keimlings*homogenat*, total unterdrückt zu sein schien. Da die Möglichkeit bestand, daß die AO zwar gebildet, aber nachträglich bei der Homogenisierung durch Isopropylhydrazin inaktiviert wird, wurde das Homogenisieren vermieden und zur Bestimmung der AO-Aktivität Schnitte von Keimblättern der in Isopropylhydrazinlösung gekeimten Erbsen verwendet. Auf diese Weise konnte eine AO-Menge nachgewiesen werden, die rund 15% der Aktivität von Schnitten normal gekeimter gleichaltriger Erbsen entsprach. Bei höheren Isopropylhydrazinkonzentrationen (10^{-2} molar) war das Wachstum der Keimlinge zu rund 50% gehemmt; die Schnitte ihrer Keimblätter hatten nur 6% der normalen AO-Aktivität. Es führt also auch die durch Isopropylhydrazin verursachte Verminderung der AO-Aktivität im Erbsenkeimling zu einer Wachstumshemmung. Falls die AO für die Keimung notwendig ist, genügt offenbar auch eine gegen die Norm stark verringerte AO-Aktivität den Anforderungen des Stoffwechsels; d. h., die AO ist, wie wohl alle Fermentsysteme, auf mehrfache Sicherheit angelegt.

Tabelle. *Hemmung der Keimung der Erbse und Aminoxydasebildung*

	Molarität (negativer Logarithmus)	Hemmung der Keimung in Prozent	Hemmung der AO-Bildung in Prozent		Hemmung gereinigter AO in Prozent
			Homogenate	Schnitte	
2,4-Dichlorphenoxyessigsäure	3,5	80	80		0
	2,5	90	90		0
Chloramphenicol	3,0	0	0		0
	2,0	70	70		0
Isonicotinsäurehydrazid	6,0	0	0		
	4,0	0	0		50
	2,0	50	75		
Isopropylhydrazin	7,0	0			60
	6,0	0	0		100
	4,0	0	30		
	3,0	0	100	85	
	2,0	50		95	
Aminoguanidin	4,0	20	80	80	100
	2,0	70	100	100	
Dinitrophenol	4,0	0	0		0
	3,0	90	95		0
Adenosintriphosphorsäure	3,0	0	0		0
4-Desoxypyridoxin	3,0	0	0		0
Terramycin	3,0	0	0		0
Pyridoxalphosphat	3,0	0	0		0

Da es Hinweise dafür gibt, daß Pyridoxalphosphat als Co-Ferment der AO fungiert[3, 6, 10], versuchten wir, die Keimung und AO-Bildung durch Pyridoxalphosphatzusatz zum Quellungswasser (10^{-1} molar) zu stimulieren bzw. durch 4-Desoxypyridoxin (10^{-3} molar) zu hemmen. Das Ergebnis war negativ.

Das die Atemkettenphosphorylierung entkoppelnde und die Eiweißsynthese hemmende 2,4-Dinitrophenol hemmt in 10^{-3} molarer Lösung die Keimung und AO-Bildung fast total. Die Aktivität der gelösten AO wird durch 2,4-Dinitrophenol und auch durch Adenosintriphosphorsäure nicht verändert.

Aus der Gesamtheit der Versuche geht hervor, daß die AO bei der Keimung mit Hilfe von Verbrennungsenergie neu aufgebaut wird. Da wir feststellten, daß die Keimung auch bei AO-freien Pflanzen wie Gras, Kresse oder Weizen durch AO-Hemmstoffe stark gehemmt wird — G. D. Ludwig[8] beobachtete beim Überführen von Tomatenkeimlingen in eine isonicotinsäurehydrazidhaltige Nährlösung eine Wachstumshemmung — ist es nicht möglich, zu entscheiden, ob die AO zu den lebenswichtigen

Fermenten der keimenden Erbse gehört. Offenbar wird durch die untersuchten Substanzen nicht nur die AO gehemmt, sondern es werden auch andere für Keimung und Wachstum wichtige Enzyme blockiert, so z. B. die Transaminasen durch Isonicotinsäurehydrazid.

Daß aber die Bildung der AO nicht an die Entwicklung eines Keimes, wohl aber an einen intakten Zellstoffwechsel im Keimblatt gebunden ist, konnten wir mit Sicherheit feststellen. Es wurden die 12 Std lang gequollenen Samen in die schon angelegten beiden Keimblatthälften in der Weise geteilt, daß der Embryo von der einen Hälfte vorsichtig gelöst wurde, mit der anderen Hälfte aber in Verbindung blieb. Nach mehrtägiger Quellung bzw. Keimung (nur die den Embryo tragende Hälfte entwickelte einen Keim) konnten wir in *beiden* Keimblatthälften eine AO-Aktivität nachweisen, deren Summe der Aktivität eines normalen *ganzen* Keimblattes entsprach. Ließen wir einen aus trockenen gepulverten Erbsen hergestellten Brei für die gleiche Zeit quellen wie die Keimblatthälften ohne Keim, so war in ihm niemals eine AO-Aktivität anzutreffen. AO wurde in dem gequollenen Keimblatt auch dann gebildet, wenn *vor* der Quellung der Embryo operativ entfernt wurde. Die AO-Bildung wird also auch nicht durch den Embryo induziert.

D. Über das Vorkommen von AO-Substraten in Erbsenkeimlingen

Es war zu erwarten, daß der hohen AO-Aktivität im Erbsenkeimling ein lebhafter Substratumsatz zugeordnet ist. Da in den Keimblättern die AO-Aktivität größer ist als in der Wurzel und im Sproß, war es wahrscheinlicher, in letzteren AO-Substrate anzutreffen als in den Keimblättern. Wir fanden mit dem beschriebenen Verfahren bei 5 verschiedenen Erbsensorten (s. Fußnote *** S. 125) 2,5—5,6 μmol Substrat/g Frischgewicht in Wurzel + Sproß. Die Konzentration dieser natürlichen Substrate war jeweils am dritten Tag der Keimung am höchsten. Bei 12 Tage alten Keimlingen ergab sich eindeutig, daß die Wurzel mehr AO-Substrat enthielt als der Sproß, jedoch wurden diese Änderungen der Konzentrationsverhältnisse in Abhängigkeit vom Alter der Pflanzen noch nicht systematisch untersucht.

Eine geringe Substratanreicherung, z. B. von 3 auf 5 μmol, wurde nach 2tägigem Verbringen von Keimlingen in N_2-Atmosphäre, nicht aber nach Zusatz eines AO-Hemmstoffes (z. B. Aminoguanidin) zum Quellungs- oder Gießwasser festgestellt. Offenbar führt die Wachstumshemmung auch zu einem verringerten Anfall an AO-Substraten. Daß es sich in der Tat bei den nachgewiesenen Stoffen um AO-Substrate handelt, ist dadurch gesichert, daß sie wie Histamin oder Cadaverin durch hochgereinigte AO optimal bei p_H 7,0 unter NH_3-Entwicklung und

O_2-Verbrauch abgebaut werden und der Abbau durch Hemmstoffe der AO verhindert wird.

Im ruhenden Erbsensamen, der ja keine AO-Aktivität besitzt, waren AO-Substrate nicht nachweisbar.

Zusammenfassung

1. Es wurde das zeitliche Auftreten der Aminoxydase im Erbsenkeimling untersucht. Das Ferment wird 24 Std vom Beginn der Quellung an gerechnet nachweisbar. Seine Aktivität nimmt bis zum 6. Keimungstag rasch zu, um dann langsam abzufallen. Die weitaus höchste AO-Aktivität findet sich jeweils im Keimblatt.

2. Die Aminoxydase wird bei der Keimung unter Verwendung von Verbrennungsenergie neu synthetisiert. Für die Keimung und AO-Bildung kann der Sauerstoff durch Adenosintriphosphorsäure nicht ersetzt werden; in Stickstoffatmosphäre wird die Aminoxydase nicht gebildet.

3. Keimungshemmende Stoffe, zum Quellungs- und Gießwasser zugegeben, hemmen die AO-Bildung etwa in gleichem Maße wie die Keimung. Entsprechendes gilt für die hochwirksamen Hemmkörper der AO. Da diese die Keimung auch bei Pflanzen hemmen, die keine AO zu bilden vermögen, konnte die Frage, ob die AO bei der Keimung unentbehrlich ist, nicht entschieden werden.

4. Die AO wird im Keimblatt auch dann gebildet, wenn vor der Quellung der Embryo aus dem ruhenden Samen entfernt wurde. Die AO-Bildung wird also nicht durch den Embryo induziert.

5. Substrate der Aminoxydase waren in Wurzel und Sproß, nicht aber im ruhenden Samen nachweisbar.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft verdanken wir die Mittel für diese Untersuchung.

Literatur

[1] Chrzaszcz, T., u. J. Janicki: Wirkung von Trypsin und Amylokinase auf die Menge der Amylase verschiedener Getreidearten. Biochem. Z. **274**, 274—284 (1934). — Labferment und diastatische Kraft ungekeimter Getreide. Biochem. Z. **278**, 112—122 (1935). — Proteaseeinwirkung auf das Eiweiß ungekeimter Getreidearten und ihr Einfluß auf deren amylolytische Kraft. Biochem. Z. **281**, 408—419 (1935). — The presence of a kinase of amylase in trypsin preparations. Biochem. J. **28**, 1949—1954 (1934). — Sulphuretted hydrogen as a factor in the determination of free and bound amylase in ungerminated cereals. Biochem. J. **30**, 342—344 (1936). — [2] Conway, E. J., and A. Byrne: An absorption apparatus for the micro-determination of certain volatile substances. The micro-determination of ammonia. Biochem. J. **27**, 419—429 (1933). — [3] Davison, A. N.: Pyridoxal phosphate as coenzyme of diamine oxidase. Biochem. J. **63**, 546—548 (1956). — [4] Ford, J. S., u. J. M. Guthrie: Beiträge zur Biochemie der Gerste. Wschr. Brauerei **25**, 164—168, 180—184 (1908). — [5] Frank, H., u. P. H. Koecher:

Der Serumeiweißspiegel beim Menschen nach Untersuchungen mit der Biuretmethode. Dtsch. Arch. klin. Med. **197**, 189—190 (1950). — [6] GORYACHENKOVA, E. V.: On the mode of diamine oxidase (Histaminase). Biohimija **21**, 322—328 (1956). — [7] KENTEN, R. H., and P. J. G. MANN: The oxydation of amines by extracts of pea seedlings. Biochem. J. **50**, 360—369 (1952). — [8] LUDWIG, G. D.: Inhibition of plant growth by isonicotinic acid hydrazide. Fed. Proc. **17**, 524 (1958). — [9] WEICHSELBAUM, T. E.: Accurate and rapid method for determination proteins in small amounts of blood serum and plasma. Amer. J. clin. Path., Techn. Sec. **10**, 40—49 (1946). — [10] WERLE, E., u. E. v. PECHMANN: Über die Diaminoxydase der Pflanzen und ihre adaptative Bildung durch Bakterien. Justus Liebigs Ann. Chem. **562**, 44—60 (1949). — [11] WERLE, E., u. G. HARTUNG: Zur Kenntnis der Diaminoxydase mit besonderer Berücksichtigung des Enzyms aus Rotklee. Biochem. Z. **328**, 228—238 (1956).

Prof. Dr. Dr. E. WERLE,
München, Chirurgische Universitätsklinik, Nußbaumstraße 20

Planta, 53, 134—144 (1959)

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut und dem Systematisch-Geobotanischen Institut der Universität Göttingen

ENDOGEN-TAGESPERIODISCHE SCHWANKUNGEN DER HITZERESISTENZ BEI *KALANCHOË BLOSSFELDIANA*

Von

B. Schwemmle und O. L. Lange

Mit 1 Textabbildung

(Eingegangen am 23. Januar 1959)

Einleitung

Die Widerstandsfähigkeit der Pflanzen gegen kurzfristige Einwirkung extrem hoher Temperaturen, ihre Hitzeresistenz, stellt keinen konstanten Wert dar. Während der pflanzlichen Entwicklung und abhängig von Außenfaktoren kann sie, wie vielfach nachgewiesen wurde, in gewissen Bereichen Änderungen unterworfen sein (vgl. Bělehrádek 1935, Precht, Christophersen und Hensel 1955, Levitt 1956) und z.B. *jahres*periodische Schwankungen zeigen (Illert 1924, Lange 1955 und in Vorbereitung). Neben mehreren, sich zum Teil widersprechenden Angaben über den Einfluß von Licht und Dunkelheit auf die Hitzeresistenz der Pflanzen (Illert 1924, Lepeschkin 1935, Sapper 1935, Heyne und Laude 1940) liegt bisher u.W. aber nur ein Hinweis von Laude (1939) über das Vorhandensein eines *Tagesganges* der Hitzeresistenz vor. Bei einigen Feldgetreidearten stieg hier die Hitzeresistenz im natürlichen Licht-Dunkelwechsel während der Belichtung bis zu einem Maximum in den Mittags- und Nachmittagsstunden an, um dann besonders während der Dunkelzeit bis zu einem Minimum am frühen Morgen wieder abzufallen. Bemerkenswerterweise genügte bereits 1 Std Licht nach der normalen Dunkelzeit für eine deutliche Erhöhung der Resistenz, die deshalb kaum allein etwa auf den Einfluß der im Licht gebildeten Assimilate zurückgeführt werden kann. Laude selbst vermutet eine Beteiligung „anderer photochemischer Vorgänge". Auch Sapper (1935) fand, daß kleinere Unterschiede in der Kohlenhydraternährung allein ohne Wirkung auf die Widerstandsfähigkeit gegen Hitze bleiben. Bei ausdauernden Pflanzen konnte Moschkov (1935, 1939) Zusammenhänge zwischen der Frost- und Trockenresistenz und der photoperiodischen Reaktion nachweisen.

Die in den Pflanzen ablaufenden endogen-tagesperiodischen Aktivitätsschwankungen (vgl. hierzu Bünning 1956a, b, 1958b) äußern sich nicht nur in tagesperiodischen Änderungen der Lichtempfindlichkeit (Bünning 1950, 1958b und die dort zitierte Literatur; Clauss und

SCHWEMMLE 1959), sondern sie finden ihren Ausdruck auch in tagesperiodischen Änderungen des Reaktionsvermögens auf hohe bzw. niedrige (noch nicht tödlich wirkende) Temperaturen (NAKAYAMA 1953, SCHWEMMLE 1953, 1957 und in Vorbereitung). Die Frage ist deshalb naheliegend, ob auch die Temperaturgrenzen der Lebensfähigkeit von den beiden physiologisch selbstgesteuerten, im Laufe eines Tages aufeinanderfolgenden Phasen der endogenen Tagesrhythmik beeinflußt werden. Zur Beantwortung ist es notwendig, bei einem möglichst gut bekannten Objekt in einem gegebenen Licht-Dunkelwechsel unter sonst konstanten Bedingungen 1. den tagesperiodischen Verlauf der Resistenz gegen extreme Temperaturen genau zu verfolgen, und 2. nach dem Wegfall des steuernden Licht-Dunkelwechsels gegebenenfalls durch die Fortsetzung der Schwankungen eine Beteiligung endogener Faktoren nachzuweisen. Wir untersuchten deshalb die Hitzeresistenz[1] der Blätter bei der qualitativen Kurztagpflanze *Kalanchoë bloßfeldiana*, bei der neben der photoperiodischen Reaktion (HARDER 1946, 1948, HARDER und v. WITSCH 1940, HARDER und BODE 1943, HARDER und GÜMMER 1949, MELCHERS 1956) auch der Verlauf der endogenen Tagesrhythmik (BÜNSOW 1953a, b) gleichermaßen eingehend bekannt ist.

Methodik

Die Anzucht der *Kalanchoë*-Pflanzen erfolgte wie üblich unter nichtinduktiven Bedingungen (natürlicher Tag + Störlicht von 0—2 Uhr nachts) im Gewächshaus; durch ständiges Ausbrechen der Achselknospen wurden sie unverzweigt gehalten. Im Alter von etwa 6 Monaten (nach der Ausbildung von 10—11 Blattpaaren) wurden der Größe und dem Entwicklungszustand nach vergleichbare Exemplare ausgewählt und in einer Klimakammer zur Einregulierung der endogenen Tagesrhythmik einem 12:12 Std-Licht-Dunkelwechsel bei $20^0 \pm 0{,}8^0$ (thermoelektrische Registrierung) und einer relativen Feuchte von 80% ±5% ausgesetzt. Die Lichtintensität (Philips-Leuchtstoffröhren der Typen TL 40/34 Weiß de Luxe und TL 40/29 Warmton im Verhältnis 1:1) betrug in Gipfelhöhe gleichmäßig 5000 Lux. Nach 8—12 Tagen wurde mit den Hitzeresistenzbestimmungen begonnen, die in Abständen von 6 bzw. 12 Std zu den auf der Abszisse der Abb. 1 angegebenen Zeiten während des Licht-Dunkelwechsels und des daran anschließenden Dauerdunkels ausgeführt wurden.

Hierzu wurden die Pflanzen nach der von SACHS (1864) eingeführten und dann später immer wieder verwendeten Methode (vgl. LEVITT 1956) in Wasser erhitzt. Die oberirdischen, beblätterten Teile von jeweils

[1] Unter Hitzeresistenz wird hier stets die „plasmatische" bzw. „primäre" Resistenz verstanden (vgl. LANGE 1959).

6 Topfpflanzen wurden in einem ständig gerührten Wasserbad (Regenwasser, Konstanz 0,3° gesamte Fehleramplitude) 30 min lang einer Temperatur von 46,0° C ausgesetzt. Anschließend kamen sie zur Nachkultur in schwaches Dauerlicht (400—500 Lux in Gipfelhöhe, 20° ± 1° C, 80% rel. Feuchte). Die Hitzeschäden machten sich durch Verfärbung oder (und) Verschrumpelung einzelner Blattbezirke oder der ganzen Blätter bemerkbar, die dann später vertrockneten. Jeweils genau 4 und 5 Tage nach der Erhitzung wurden die Schädigungsgrade der Blätter jeder Pflanze geschätzt und — wie bei Resistenzbestimmungen allgemein üblich (vgl. z.B. Till 1956, Bornkamm 1958, Lange 1959) — die geschädigten Blattbezirke in Prozenten der gesamten Blattfläche angegeben. Die dekussiert stehenden Blattpaare wurden dabei vom Gipfel abwärts gezählt und als Blattpaar Nr. 1 die beiden obersten, über der Gipfelknospe noch geschlossenen etwa 5 mm langen Blätter gerechnet.

Die Erhitzungstemperatur und ihre Einwirkungsdauer waren ebenso wie die Zeit bis zur Protokollierung der Hitzeschäden in Vorversuchen bestimmt worden. Die Angleichung der Blattemperatur an die Temperatur des Wasserbades erfolgte innerhalb von 30 sec und die spätere Abkühlung auf die Nachkulturtemperatur in etwa 2 min (Prüfung durch Einstechen einer Thermonadel in den dicksten Blattgewebebereich nahe der Mittelrippe und Registrierung der Blattemperatur mit Hilfe eines Sechsfarben-Punktschreibers der Firma Hartmann und Braun in 30 sec-Intervallen).

Bei 2 Versuchsreihen wurde zur Kontrolle die Hitzeresistenz nicht in Wasser, sondern im dampfgesättigten Luftraum bestimmt (vgl. Sachs 1864, Sapper 1935). Diese Methode, die im Prinzip gleiche Ergebnisse bringt (vgl. Lange 1959), bewährte sich aber für unsere spezielle Fragestellung nicht so gut, da auch bei Klimakammern die Temperaturregelung noch so träge ist, daß die Blätter während der Erhitzungsperiode im allgemeinen größeren Temperaturschwankungen ausgesetzt sind als bei einer Behandlung im Wasserbad.

Versuchsergebnisse und Diskussion

Die Versuchsdaten der letzten von insgesamt 4 mit gleichen Ergebnissen durchgeführten Versuchsreihen sind in der Abb. 1 zusammengestellt. Augenfällig ist die tagesperiodische Schwankung der Hitzeresistenz, die sich in der graphischen Darstellung durch den unterschiedlich starken Schädigungsgrad der Blätter bestimmter Wirtel zu verschiedenen Tageszeiten ausdrückt: Im 12:12 Std-Licht-Dunkelwechsel werden die Blätter im Durchschnitt aller untersuchten Tagescyclen während der Mitte der Lichtperiode am stärksten geschädigt, während die Resistenz in den Dunkelzeiten wesentlich größer ist. Diese Unterschiede sind unter den gegebenen Bedingungen z.B. beim Blattpaar 4, wo sie über 40% betragen, statistisch gesichert (Tabelle); sie entsprechen nach noch unveröffentlichten Ergebnissen (Lange und Schwemmle, in Vorbereitung) einer Differenz in der Schädigung, wie sie durch Erhöhung bzw. Erniedrigung der halbstündigen Erhitzungstemperatur um etwa 1°

bewirkt wird. Wäre die unterschiedliche Resistenz allein von der jeweiligen Einwirkung des Lichtes bzw. der Dunkelheit abhängig, so müßte entweder ein kontinuierlicher Anstieg vom Beginn bis zum Ende der Lichtzeit oder eine gleichbleibende Stärke des Schädigungsgrades während dieser Zeit zu erwarten sein, und umgekehrt entweder eine gleichbleibend geringe Schädigung während der Dunkelzeit bzw. ein gleichmäßiger Abfall des Schädigungsgrades in dieser Phase. Auch Anstieg und Abfall in Form von Sättigungskurven wären denkbar. Tatsächlich aber steigt die Hitzeresistenz (Abnahme des Schädigungsgrades in Abb. 1) schon von der Mitte der Lichtzeit an, und fällt andererseits durchschnittlich schon vor dem Beginn der Lichtperiode des folgenden Licht-Dunkelcyclus wieder ab (Zunahme des Schädigungsgrades in Abb. 1).

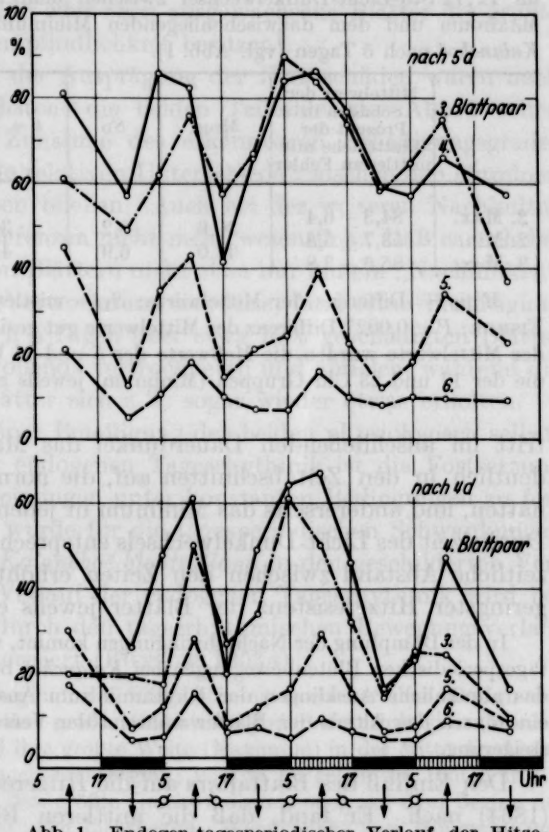


Abb. 1. Endogen-tagesperiodischer Verlauf der Hitzeresistenz bei den mittleren Blattpaaren der Kurztagpflanze *Kalanchoë bloßfeldiana* im 12:12 Std-Licht-Dunkelwechsel und im anschließenden Dauerdunkel. Geprüft wurde der Schädigungsgrad der Blätter, ausgedrückt in Prozenten ihrer Blattfläche (Ordinate), die 4 bzw. 5 Tage vorher zu den auf der Abszisse ersichtlichen Zeiten im Wasserbad erhitzt worden waren (30 min, 46,0° C). Zunehmende Hitzeresistenz entspricht also den fallenden, abnehmende Resistenz den ansteigenden Kurvenabschnitten. Die Lichtperioden sind auf der Abszisse hell und die Zeitabschnitte, die während des Dauerdunkels ihrer Lage nach den Lichtzeiten entsprechen, gestrichelt angegeben. — Auf der Abszisse sind ferner zum Vergleich die Kardinalpunkte der endogen-tagesrhythmischen Blütenbewegung unter entsprechenden Bedingungen gekennzeichnet (nach Bünsow 1953a; ↑ = Maximum der Blütenöffnung, ♀ = Wendepunkt zum Minimum, ↓ = Minimum, ♂ = Wendepunkt zum Maximum)

Schon dieser Befund läßt die Beteiligung von endogen-rhythmischen Vorgängen erwarten, die durch den täglichen Licht-Dunkelwechsel einreguliert werden. Bestätigt wird das durch die Fortsetzung der Hitzeresistenzschwankungen nach dem Wegfall des steuernden Licht-Dunkelwechsels: Über zwei weitere Perioden hinweg

Tabelle

Statistische Sicherung (t-Test, Pätau 1943) der tagesperiodischen Unterschiede im 12:12 Std-Licht-Dunkelwechsel zwischen dem 2. bzw. 3. Hitzeschädigungs-Maximum und dem dazwischenliegenden Minimum bei dem 4 Blattpaar von *Kalanchoë* nach 5 Tagen (vgl. Abb. 1).

	Mittelwert der Schäden in Prozent der Blattfläche mit mittlerem Fehler	$M_{Diff.}$	S_D	$t = \frac{M_{Diff.}}{S_D}$	Anzahl der Freiheitsgrade	P
2. Max.	$84{,}3 \pm 6{,}4$	30,6	8,2	3,7	22	0,0013
2. Min.	$53{,}7 \pm 5{,}8$	32,0	6,9	4,6	22	0,0002
3. Max.	$85{,}6 \pm 3{,}8$					

$M_{Diff.}$ = Differenz der Mittelwerte; S_D = mittlerer Fehler der Differenz nach Fisher; $P < 0{,}0027$ Differenz der Mittelwerte gut gesichert. — Für die Berechnung der Mittelwerte wurden die Meßwerte der 5 und 11 Uhr-Gruppen (Maxima) bzw. die der 17 und 23 Uhr-Gruppen (Minimum) jeweils zusammengefaßt.

tritt im anschließenden Dauerdunkel das Maximum der Schädigung deutlich in den Zeitabschnitten auf, die normalerweise Licht erhalten hätten, und andererseits das Minimum in jenen, die ihrer Lage nach der Dunkelzeit des Licht-Dunkelwechsels entsprechen. Auch hier beträgt der zeitliche Abstand zwischen den Zeiten erhöhter bzw. zwischen denen geringster Hitzeresistenz der Blätter jeweils erstaunlich genau 24 Std.

In der Dämpfung der Nachschwingungen kommt, wie das z. B. für die endogen-tagesperiodischen Blütenbewegungen bei *Kalanchoë* bekannt ist (Bünsow 1953a), das allmähliche Ausklingen der Rhythmik zum Ausdruck, möglicherweise auch eine durch das Altern der Blätter während der Versuchszeit bedingte Resistenzsteigerung.

Den Einfluß des Blattalters auf die Hitzeresistenz wies schon Sachs (1864) nach. Er fand, daß die mittleren Blätter einer Pflanze am empfindlichsten reagieren, während sich die jüngsten und die älteren Blätter wesentlich resistenter verhalten. Diese Tatsache hat sich auch bei *Kalanchoë* bestätigt, und in der beigefügten Abbildung sind deshalb die Verhältnisse für die Blattpaare 3—6 angegeben. Deutlich hebt sich bei den älteren Blattpaaren nicht nur die mit steigendem Alter zunehmende Hitzeresistenz, sondern auch die Abnahme der Amplitude im täglichen Resistenzverlauf gegenüber den jüngeren Blättern der Wirtel 3 und 4 ab. Die Blattpaare 1 und 2 erwiesen sich gegenüber dem 3. Paar als beträchtlich resistenter und zeigten auch unregelmäßigere tagesperiodische Schwankungen; bei den tieferstehenden Blattpaaren 7—11 waren unter den gegebenen Versuchsbedingungen Hitzeschäden kaum oder nicht mehr zu erkennen. Die höchste Empfindlichkeit gegenüber extrem hohen Temperaturen besitzen also bei *Kalanchoë* die mittleren noch stark wachsenden Blätter (bei der hier durchgeführten Zählung vom Gipfel abwärts ist im allgemeinen das 6. oder das 7. Blattpaar

gerade ausgewachsen), eine Tatsache, die mit der bei den meisten photoperiodisch reagierenden Pflanzen bekannten Beobachtung übereinstimmt, daß wachsende oder eben ausgewachsene Blätter die größte photoperiodische Lichtempfindlichkeit besitzen[1].

Die Unterschiede in der Ausprägung der Hitzeschäden waren nach 4—5 Tagen am deutlichsten; die beiden Teilbilder der Abb. 1 sollen zeigen, daß trotz der Zunahme des erkennbaren Schädigungsgrades innerhalb eines Tages die relativen Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsgruppen erhalten blieben. Auch bei der weiteren Nachkultur änderten sich diese Differenzen nicht mehr wesentlich. Daß es sich bei den weniger geschädigten Blättern nicht etwa nur um ein „Nachhinken" in der Verfärbung und Vertrocknung handelte, fand seine Bestätigung auch darin, daß die nach 5 Tagen über etwa 75% geschädigten Blätter im allgemeinen später vollends vertrockneten und abfielen, während die geringer betroffenen Blätter sich z.T. sogar wieder etwas erholten.

Für den Nachweis einer Beteiligung der beiden physiologisch selbstgesteuerten Phasen der endogenen Tagesrhythmik ist die Fortsetzung der untersuchten Erscheinungen unter konstanten Bedingungen zu fordern. Dieser Nachweis wurde für die tagesperiodischen Schwankungen der Hitzeresistenz bei *Kalanchoë bloßfeldiana* in den geschilderten Versuchen erbracht. Der Verlauf der endogenen Tagesrhythmik wird bei dieser Kurztagpflanze durch den tagesrhythmischen Bewegungsverlauf der Blüten gut charakterisiert (Bünsow 1953a):

Im 12:12 Std-Cyclus beginnt die Blütenöffnung noch vor dem Beginn der Lichtperiode und erreicht ihre größte Geschwindigkeit bei Lichtbeginn (Wendepunkt zum Maximum) und ihre größte Weite (Maximum) in der Mitte der Lichtperiode, also etwa 6 Std nach Lichtbeginn; von da ab gehen die Blüten in die Schließbewegung über, die ihre größte Geschwindigkeit noch vor dem Beginn der Dunkelperiode (etwa 10 Std nach Lichtbeginn; Wendepunkt zum Minimum) und ihren kleinsten Öffnungswinkel (Minimum) in der Mitte der Dunkelzeit erreicht, um von da ab wieder mit der Öffnungsbewegung zu beginnen. Im Dauerdunkel setzen sich diese Bewegungen mit einer vom Alter der Blüten abhängigen mehr (bei alten Blüten) oder weniger starken Dämpfung fort. Die erwähnten Kardinalpunkte der Blütenbewegung sind zum Vergleich auf der Abszisse der Abb. 1 angegeben, ihre Lage stimmt im ganzen mit den deshalb so gewählten Erhitzungszeiten überein.

Wie Bünsow (1953a, b) weiter gezeigt hat, vermögen die Blütenbewegungen gut die tagesrhythmische Folge fördernder bzw. hemmender Lichtwirkung auf die Blütenbildung dieser Pflanze wiederzugeben; und zwar ist der Zustand der Blütenöffnung mit der photophilen, und der des Blütenschlusses mit der skotophilen Phase hinsichtlich der Blütenbildung gleichzusetzen (vgl. Bünning 1950, 1958b). Die Abschnitte

[1] Über eine Analyse des Einflusses des Blattalters und einiger anderer damit zusammenhängender Faktoren auf die Hitzeresistenz bei *Kalanchoë* werden wir an anderer Stelle berichten (Lange und Schwemmle, in Vorbereitung).

abnehmender und geringer Hitzeresistenz fallen also mit der Öffnungsbewegung der Blüten und gleichzeitig mit dem Zustand der Photophilie, und die Zeitabschnitte steigender bzw. erhöhter Hitzeresistenz mit der Blütenschließbewegung und zugleich mit dem Zustand der Skotophilie zusammen (vgl. hierzu auch die Fortsetzung des Wechsels von Photo- und Skotophilie in länger dauernden Cyclen [Bünsow 1953b, Melchers 1956]).

Vergleicht man hiermit noch einige andere, bei *Kalanchoë* aufgefundene endogen-tagesperiodisch schwankende Vorgänge, so fällt die geringe Hitzeresistenz ferner weitgehend mit steigender Fermentaktivität (Phosphatase; Ehrenberg 1954), mit fallendem Gesamtsäuregehalt und mit hohem Wuchsstoffgehalt der Blätter zusammen (Becker 1953). Insgesamt ist also hohe Stoffwechselaktivität jeweils mit fallender oder geringer Hitzeresistenz verbunden, und umgekehrt, geringere Aktivität mit steigender oder hoher Resistenz. Auch die relative Förderung der Blütenbildung bei *Kalanchoë* durch kurze Zeitabschnitte hoher Temperatur (35°, die kontinuierlich geboten weder Blütenbildung noch Blütenblattbewegungen zulassen[1]) innerhalb der ersten Hälfte der Dunkelperiode eines 12:12 Std-Cyclus steht damit in Übereinstimmung; und ebenso auch die zunehmende Hemmung durch die gleichen 35°-Abschnitte während der zweiten Hälfte der Dunkelzeit (Schwemmle 1957 und in Vorbereitung), in der auch die Empfindlichkeit gegen extrem hohe Temperaturen ansteigt.

Bünning (1958a, b) hat für den Ablauf der endogenen Tagesrhythmik ein Schema entworfen, nach dem die Zeit stärkster energetischer Entspannung des Oscillators der endogenen Tagesrhythmik im 12:12 Std-Licht-Dunkelcyclus etwa 6 Std nach Lichtbeginn erreicht wird, und der Zustand der stärksten energetischen Spannung etwa 12 Std später in der Mitte der Dunkelperiode liegt. Dazwischen sind die Spannungs- und die Entspannungsphasen eingeschaltet. Nach dem Verlauf der Blütenbewegung darf gefolgert werden, daß auch *Kalanchoë* hinsichtlich der zeitlichen Lage der beiden Halbcyclen ihrer endogenen Tagesrhythmik diesem zunächst für *Phaseolus* aufgestellten Schema folgt. Soweit unsere Versuche eine Zuordnung bereits erlauben, fällt dann im Durchschnitt aller geprüften Tagescyclen jeweils der Zeitabschnitt steigender Hitzeresistenz mit dem Vorgang der Spannung und der Zeitabschnitt abnehmender Resistenz gegen extrem hohe Temperaturen mit dem Vorgang der Entspannung zusammen. Für *Kalanchoë* liegen zur Zeit noch zu wenig Versuche vor, die es gestatten, auch die Phasen der überwiegend synthetischen bzw. dissimilatorischen Leistungsfähigkeit einem bestimmten Abschnitt oder Zustand des diurnalen Systems zuzuordnen und mit dem Resistenzverlauf des Gewebes zu vergleichen. Nach den

[1] Nach unveröffentlichten Befunden von O. Oltmanns.

Ergebnissen mit anderen Objekten scheint die Fähigkeit zur Substanzproduktion hauptsächlich an den Zustand der Entspannung und der beginnenden Spannung des Oscillators bis zum Übergang zum 2. Halbcyclus gebunden zu sein (CLAUSS und SCHWEMMLE 1959).

Es ist vorläufig auch noch nicht möglich, bei *Kalanchoë* genauere Angaben über die den Hitzeresistenzschwankungen *unmittelbar* zugrunde liegenden Ursachen zu machen. Nach BOGEN (1949; vgl. auch LEVITT 1956) kann das Wesen der Widerstandsfähigkeit der Pflanzenzelle gegen extrem hohe Temperaturen im Bestehen bzw. in der Beständigkeit der plasmatischen Struktur gesucht werden. Änderungen in der Resistenz werden durch Änderungen im Plasmazustand hervorgerufen. Es ist demnach anzunehmen, daß auch die endogen-tagesperiodischen Schwankungen der Hitzeresistenz durch die Veränderungen bewirkt werden, die mit dem endogen-gesteuerten Aktivitätswechsel in Beziehung stehen. Schon früher hat BUSCH (1953; vgl. hierzu BÜNNING 1956a) Änderungen in der kolloidalen Struktur protoplasmatischer Elemente im Zusammenhang mit der endogenen Tagesrhythmik beobachtet: Bei *Selaginella serpens* ließen sich endogen-tagesperiodische Formänderungen der Chloroplasten nachweisen, die mit p_H-Schwankungen zu parallelisieren waren und auf Oberflächenspannungs- und Viscositätsänderungen zurückgeführt werden konnten. Gerade der Viscositätsgrad des Plasmas wird aber oft (HENKEL und MARGOLINA 1948, HENKEL 1949) als wesentliches Kriterium für die Hitzeresistenz der Pflanzen angesehen. Rhythmische Schwankungen der Plasmaviscosität sind von STÅLFELT (1946) und VIRGIN (1947, 1948) bei einigen anderen Pflanzenarten *(Helodea, Spirogyra, Mnium)* bereits beobachtet worden, und nach SEIFRITZ (1952) herrscht ein bestimmter Zusammenhang zwischen Viscosität und Aktivität des Plasmas. Eingehende Untersuchungen über die Plasmaviscosität bei *Kalanchoë* stehen bisher noch aus. Dagegen liegen Angaben über endogen-tagesperiodische Komponenten im Wasserhaushalt von *Kalanchoë* vor, die auf periodische Veränderungen von Permeabilität und Hydratationsgrad des Plasmas schließen lassen und in Verbindung zu den Hitzeresistenzschwankungen gebracht werden könnten. So fand HEIMANN (1950) eine diurnale Guttationsrhythmik vegetativer Sprosse, mit der sich die Hitzeresistenzveränderungen nahezu synchronisieren lassen (wobei die Zeiten geringer Guttation mit denen niedriger Resistenz zusammentreffen). BECKER (1953) konnte tagesperiodische, mit dem Verlauf der Blütenbewegung ungefähr parallel gehende Schwankungen im Wassergehalt der Blütenblätter und ZUR LIPPE geb. BECKER (1957) diurnale Schwankungen in der Wasseraufnahme von *Kalanchoë*-Inflorescenzen nachweisen.

Gegenüber den allerdings wohl nicht unter konstanten Temperatur- und Feuchtebedingungen erhaltenen Befunden von LAUDE (1939) an

Gräsern (meist Langtagpflanzen), die die höchste Resistenz während der Mittagsstunden aufwiesen, zeigt *Kalanchoë* im Licht eine geringere Hitzeresistenz als im Dunkeln. Auch bei Berücksichtigung des durch den Säurestoffwechsel vielleicht abweichenden Verhaltens unserer Versuchspflanze sei doch die Frage nach einem möglichen Zusammenhang dieses Unterschiedes mit dem photoperiodischen Verhalten der Pflanzen aufgeworfen. Und zwar dies um so mehr, als schon früher Unterschiede in der Reaktionsfähigkeit auf hohe und niedrige Temperaturen hinsichtlich des Substanzgehaltes wie auch der Blütenbildung zwischen Lang- und Kurztagpflanzen festgestellt werden konnten (Schwemmle 1953 und in Vorbereitung). Versuche zur Klärung dieser Frage sind in Angriff genommen.

Zusammenfassung

Die mittleren, noch nicht voll ausgewachsenen Blätter der qualitativen Kurztagpflanze *Kalanchoë bloßfeldiana* weisen unter konstanten Temperatur- und Feuchtebedingungen endogen-tagesperiodische Schwankungen der Hitzeresistenz auf:

1. Im 12:12 Std-Licht-Dunkelwechsel fällt die Resistenz gegen extrem hohe Temperaturen noch vor dem Beginn der Lichtperiode ab und erreicht ihr Minimum im Durchschnitt aller geprüften Tagescyclen von insgesamt 4 Versuchsserien etwa in der Mitte der Lichtzeit; von da ab steigt die Hitzeresistenz wieder bis zum Maximum etwa in der Mitte der Dunkelperiode an, um danach erneut abzunehmen. Im anschließenden Dauerdunkel wird diese Periodik mit gleicher Phasenlage und allmählich gedämpfter Amplitude über mindestens 48 Std weiter fortgesetzt.

2. Der Vegetationskegel und die jüngsten Blätter sowie die ausgewachsenen und alternden Blätter sind beträchtlich hitzeresistenter und zeigen keine deutlichen tagesperiodischen Empfindlichkeitsschwankungen gegen extrem hohe Temperaturen.

3. Die Ergebnisse werden im Zusammenhang mit den anderen bei *Kalanchoë bloßfeldiana* bekannten endogenen Aktivitätsrhythmen und hinsichtlich der zeitlichen Lage der Abschnitte steigender bzw. fallender Resistenz im Hinblick auf das von Bünning gegebene Schema der endogenen Tagesrhythmik besprochen.

Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

Literatur

Becker, T.: Wuchsstoff- und Säureschwankungen bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* in verschiedenen Licht-Dunkelwechseln. Planta (Berl.) **43**, 1—24 (1953). — Bělehrádek, J.: Temperature and living matter. Protoplasma-Monogr. **8** (1935). — Bogen, H. J.: Untersuchungen über Hitzetod und Hitzeresistenz pflanzlicher Protoplaste. Planta (Berl.) **36**, 298—340 (1948). — Bornkamm, R.:

Standortsbedingungen und Wasserhaushalt von Trespen-Halbtrockenrasen (Mesobromion) im oberen Leinegebiet. Flora (Jena) **146**, 23—67 (1958). — BÜNNING, E.: Über die photophile und skotophile Phase der endogenen Tagesrhythmik. Planta (Berl.) **38**, 521—540 (1950). — Endogene Aktivitätsrhythmen. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. II, S. 878—907. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956a. — Endogenous rhythms in plants. Annual Rev. Plant Physiol. **7**, 71—90 (1956b). — Cellular clocks. Nature (Lond.) **181**, 1169—1171 (1958a). — Die physiologische Uhr. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958b. — BÜNSOW, R.: Endogene Tagesrhythmik und Photoperiodismus bei *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **42**, 220—252 (1953a). — Über tages- und jahresrhythmische Änderungen der photoperiodischen Lichtempfindlichkeit bei *Kalanchoë Bloßfeldiana* und ihre Beziehungen zur endogenen Tagesrhythmik. Z. Bot. **41**, 257—276 (1953b). — BUSCH, G.: Über die photoperiodische Formänderung der Chloroplasten von *Selaginella serpens*. Biol. Zbl. **72**, 598—629 (1953). — CLAUSS, H., u. B. SCHWEMMLE: Substanzproduktion und Chlorophyllbildung von Keimpflanzen in 72-Stunden-Zyklen mit aufgeteilter Lichtphase. Z. Bot. **47**, 226—250 (1959). — EHRENBERG, M.: Einfluß verschiedenen Licht-Dunkelwechsels auf die Rhythmik der Phosphataseaktivität in den Blättern von *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **43**, 528—536 (1954). — HARDER, R.: Über photoperiodisch bedingte Organ- und Gestaltbildung bei Pflanzen. Naturwiss. **33**, 41—49 (1946). — Vegetative and reproductive development of *Kalanchoë Bloßfeldiana* as influenced by photoperiodism. Symp. Soc. exp. Biol. II, Growth **1948**, 117—138. — HARDER, R., u. O. BODE: Über die Wirkung von Zwischenbelichtung während der Dunkelperiode auf das Blühen, die Verlaubung und die Blattsukkulenz bei der Kurztagpflanze *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Planta (Berl.) **33**, 469—504 (1943). — HARDER, R., u. G. GÜMMER: Über die Blütenbildung von *Kalanchoë Bloßfeldiana* in verschiedenen Licht-Dunkelrhythmen. Planta (Berl.) **37**, 12—47 (1949). — HARDER, R., u. H. v. WITSCH: Wirkung von Photoperiodismus und Jarowisation auf die Blütenbildung von *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Gartenbauwiss. **15**, 226 (1940). — HEIMANN, M.: Einfluß periodischer Beleuchtung auf die Guttationsrhythmik. Planta (Berl.) **38**, 157—195 (1950). — HENKEL, P. A.: Über die Ursachen der Dürreresistenz einiger Xerophyten und Halophyten. [Russisch.] Bot. J. Moskau/Leningrad **34**, 461—473 (1949). Übersetzung in: Sowjetwiss., naturwiss. Abt. 1950. — HENKEL, P. A., u. K. P. MARGOLINA: Über die Ursachen der Resistenz bei Sukkulenten gegen hohe Temperaturen. [Russisch.] Bot. J. Moskau/Leningrad **33**, 55—62 (1948). — HEYNE, E. G., and H. H. LAUDE: Resistance of corn seedlings to high temperatures in laboratory tests. J. Amer. Soc. Agron. **32**, 116—126 (1940). — ILLERT, H.: Botanische Untersuchungen über Hitzetod und Stoffwechselgifte. Bot. Archiv **7**, 133—141 (1924). — LANGE, O. L.: Untersuchungen über die Hitzeresistenz der Moose in Beziehung zu ihrer Verbreitung. I. Die Resistenz stark ausgetrockneter Moose. Flora (Jena) **142**, 381—399 (1955). — Untersuchungen über Wärmehaushalt und Hitzeresistenz mauretanischer Wüsten- und Savannenpflanzen. Flora (Jena) **1959** (im Druck). — LAUDE, H. H.: Diurnal cycle of heat resistance in plants. Science **89**, 556—557 (1939). — LEPESCHKIN, W. W.: Zur Kenntnis des Hitzetodes des Protoplasmas. Protoplasma **23**, 349—366 (1935). — LEVITT, J.: The hardiness of plants. New York, N. Y.: Academic press Inc. 1956. — ZUR LIPPE, T., geb. BECKER: Wasseraufnahme und Blütenbewegung an *Kalanchoë*-Infloreszenzen in verschiedenen Licht-Dunkelwechseln. Z. Bot. **45**, 43—55 (1957). — MELCHERS, G.: Die Beteiligung der endonomen Tagesrhythmik am Zustandekommen der photoperiodischen Reaktion der Kurztagpflanze *Kalanchoë bloßfeldiana*. Z. Naturforsch. **11b**, 544—548 (1956). — MOSCHKOV, B. S.: Photoperiodismus und Frosthärte ausdauernder Gewächse. Planta (Berl.) **23**, 774—803

(1935). — Relationship between photoperiodism and drought resistance of perennial plants. C. R. Acad. Sci. URSS. **22**, 184—186 (1939). — Nakayama, S.: Experimental researches on photoperiodism: (2) Analysis of the mechanism of the dark period reaktion by the high-temperature interruption. Bull. Soc. Plant. Ecol. (Jap.) **3**, 95—107 (1953). — Pätau, K.: Zur statistischen Beurteilung von Messungsreihen (eine neue *t*-Tafel). Biol. Zbl. **63**, 152—168 (1943). — Precht, H., J. Christophersen u. H. Hensel: Temperatur und Leben. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1955. — Sachs, J.: Ueber die obere Temperatur-Gränze der Vegetation. Flora (Jena) **47**, 5—12 (1864). — Sapper, J.: Versuche zur Hitzeresistenz der Pflanzen. Planta (Berl.) **23**, 518—556 (1935). — Schwemmle, B.: Über die tagesperiodischen Änderungen des Reaktionsvermögens von Keimpflanzen auf niedrige Temperatur. Planta (Berl.) **43**, 98—132 (1953). — Zur Temperaturabhängigkeit der Blütenbildung und der endogenen Tagesrhythmik bei *Kalanchoë Bloßfeldiana*. Naturwiss. **44**, 356 (1957). — Seifritz, W.: The rheological properties of protoplasm. In Frey-Wyssling, Deformation and flow in biological systems. Amsterdam 1952. Zit. nach Stålfelt 1956. — Stålfelt, M. G.: The influence of light upon the viscosity of protoplasm. Ark. Bot. (Stockh.) **33**, 1—17 (1946). — Viskosität. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. II, S. 591—606. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1956. — Till, O.: Über die Frosthärte von Pflanzen sommergrüner Laubwälder. Flora (Jena) **143**, 499—542 (1956). — Virgin, H. J.: Changes in the viscosity of *Spirogyra* cytoplasm on the influence of light. Proc. 6th Intern. Congr. Exp. Cytol., Stockholm, Sweden, pp. 79—84, 1947. — Changes in the viscosity of the cytoplasm of *Helodea densa* Casp. during continuous illumination. Physiol. Plantarum (Cph.) **1**, 147—155 (1948).

Dr. B. Schwemmle, Dr. O. L. Lange,
Botanische Anstalten der Universität Göttingen, Untere Karspüle 2

Planta, 53, 145—161 (1959)

Aus dem Max-Planck-Institut für Meeresbiologie
Wilhelmshaven, Anton-Dohrn-Weg

PROTEINSYNTHESE IN WACHSENDEN UND NICHT WACHSENDEN KERNLOSEN ZELLTEILEN VON *ACETABULARIA*

Von
GÜNTHER WERZ und JOACHIM HÄMMERLING *, **

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 24. Januar 1959)

Einleitung

Die Untersuchungen der letzten Jahre zur Frage der Proteinsynthese in Abwesenheit des Zellkerns haben bei der einkernigen photosynthetisierenden marinen Grünalge *Acetabularia* in Bestätigung der früheren biologischen Beobachtungen über Plastiden- und Cytoplasmazunahme in kernlosen Teilen (HÄMMERLING 1934a, b) sowie von Isotopenversuchen (BRACHET et CHANTRENNE 1951) durch quantitative Protein-Stickstoff-Bestimmungen den direkten Nachweis erbracht, daß auch nach Entfernung des Kerns eine Proteinnettosynthese möglich ist (VANDERHAEGHE 1954; BRACHET et al. 1955). Diese Befunde bezogen sich auf die wuchsfähigen kernlosen Vorderstücke. Ihnen stehen als Extrem die nichtwuchsfähigen Hinterstücke gegenüber, das sind Teile aus der hintersten Stielregion (HÄMMERLING 1934a) (Abb. 1). Es erhob sich daher die Frage, wie es mit deren Proteinsynthese steht. Nimmt auch bei ihnen der Proteingehalt zu, oder nimmt er ab, oder bleibt er gleich? Überraschenderweise erwies sich die erste Möglichkeit als zutreffend. In Verbindung mit Untersuchungen über den Grad der Proteinsynthese in unterschiedlich stark wachsenden Vorderstücken ergaben sich hieraus verschiedene Folgerungen über die Beziehungen zwischen Wachstum und Proteinsynthese sowie die Art der Kernabhängigkeit beider Vorgänge.

Methodik und allgemeine Bemerkungen

Wir beschränkten uns auf die Untersuchungen von 10 mm langen Vorderstücken und ebenso langen Hinterstücken (Abb. 1). Es wurden Vorderstücke von verschiedenen Nachzuchten der Art *Acetabularia mediterranea* untersucht.

Die Ausgangspflanzen waren jeweils 30—40 mm lang. Sie standen kurz vor der Hutbildung. Um bei den Versuchsteilen Selektionen möglichst zu vermeiden, wurden nur solche Serien ausgewertet, bei denen auch am letzten Meßtage (4 bis 6 Wochen nach Entfernung des Kernes) noch keine oder nur einige wenige Teile

* J. SCHWEMMLE zum 65. Geburtstag gewidmet.

** Der erstgenannte Autor dankt der Deutschen Forschungsgemeinschaft für persönliche, beide Autoren außerdem für sachliche Unterstützung.

abgestorben waren oder dahingehende Anzeichen — beginnende Kontraktion des Protoplasten — erkennen ließen.

Alle Teilstücke stammten von Zellen optimal wachsender Nachzuchten. Auch ihre kernhaltigen Teile wuchsen gleichmäßig gut aus. Trotzdem war die Wuchsfähigkeit der kernlosen Vorderstücke, die aus ihnen hergestellt wurden, verschieden (Abb. 2). Es bestätigte sich damit die vielfältige Erfahrung, daß Unterschiede verschiedener Ausgangskulturen zunächst nicht bemerkbar zu sein brauchen, sondern sich unter Umständen erst an der Wuchsfähigkeit kernloser Teile manifestieren. Der Hauptgrund dürfte in Übereinstimmung mit allen früheren Befunden ein verschieden großer Speicher von morphogenetischen Substanzen sein, welche die Endleistung bestimmen (s. u.). Bei den kernhaltigen Zellen und ihren Teilen brauchen sich solche Unterschiede nicht auszuwirken, weil die morphogenetischen Substanzen ständig nachproduziert werden (HÄMMERLING 1934a). Ob außerdem Unterschiede bestanden, welche die Reaktionsfähigkeit der kernlosen Vorderstücke beeinflußten, kann nicht entschieden werden, ist aber für die hier interessierenden Fragen unerheblich.

Die 1 cm langen Hinterstücke verhielten sich wie üblich wegen ihres Mangels an morphogenetischen Substanzen (s. u.) viel einheitlicher. Sie bildeten in der Regel nur Abschlußkappen an den Schnittflächen. Mitunter quellen aus diesen gleich nach der Amputation kleine Blasen hervor. Sofern sie erhalten bleiben, können sie sich später etwas in die Länge strecken. Sie führen so zu einer geringfügigen Volumenerhöhung, die jedoch nicht als echtes Stielwachstum bezeichnet werden kann. Echte Stielbildung fand in den von uns verwendeten Serien nur ganz selten statt, wobei der neugebildete Stiel höchstens 1 mm lang wurde.

Für alle weiteren Einzelheiten: allgemeine Kulturbedingungen, Zahl der Versuchsteile (20—30 Teile je Messung) und Parallelbestimmungen am jeweiligen Meßtage (jeweils 5), spezielle Methode der Protein-Stickstoff-Bestimmung usw., kann auf die detaillierten Angaben an anderer Stelle verwiesen werden (HÄMMERLING 1944; BETH 1953; WERZ 1957; CLAUSS 1958). Es wurde mit der Mikrokjeldahl-Methode der in Trichloressigsäure (TCE) unlösliche Stickstoff aus Cytoplasma und Plastiden bestimmt. Diese Fraktion enthält außer dem Proteinstickstoff auch kleine, mit der verwendeten Methode nicht bestimmbare Beimengungen anderer TCE-unlöslicher N-haltiger Verbindungen. Die als Protein-N angeführten Werte liegen in Wirklichkeit also etwas niedriger. Vor der Verarbeitung wurden die Teilstücke zur Entfernung des stets sehr geringen Besatzes mit Bakterien und Pilzen sorgfältig gepinselt.

Als 0-Tag wurde stets der 2. Tag nach Amputation gewählt. Bis dahin standen die Teile zur Erholung in Schwachlicht.

Ergebnisse

1. Zuerst seien die Vorder- und Hinterstücke verglichen. Sie stammten von 7 verschiedenen Nachzuchten (Abb. 1 und Tabelle 1). Ihr Durchschnitt ergab für die unter Stiel-, Wirtel- und z. T. Hutbildung gewachsenen Vorderstücke eine Protein-N-Zunahme von 1,8 μg, für die nichtgewachsenen Hinterstücke von 1,1 μg, also eine geringere, aber noch erhebliche Nettosynthese. Die relativen Zunahme-Werte waren 150:58%. Eine gleich starke Proteinzunahme erfolgte höchstens während der ersten 2 Tage, danach war sie bei den Hinterstücken vermindert.

Die Hinterstücke hatten einen erheblich höheren Ausgangsgehalt an Proteinen als die Vorderstücke. Ob es sich hierbei um eine feste Regel

handelt, bedarf noch der Aufklärung. CLAUSS (1958) und RICHTER (1959b) arbeiteten mit Nachzuchten, bei denen der Proteingehalt hinten ungefähr ebenso groß wie vorne war. Möglicherweise waren aber bei diesen Nachzuchten die Stiele hinten dünner als vorne. In den hier verwendeten Nachzuchten waren sie vorne und hinten ungefähr gleich dick oder hinten sogar dicker als vorne.

Abb. 1

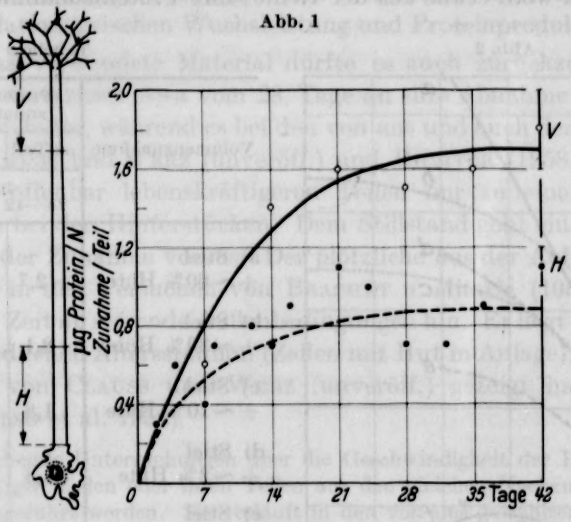


Tabelle 1

	Protein-N/Teil ± 3 m			
	0 Tage	42 Tage	Zunahme	
			absolut	%
V	1,2 ± 0,2 µg	3,0 ± 0,2 µg	1,8 µg	150
H	1,9 ± 0,1 µg	3,0 ± 0,1 µg	1,1 µg	58

Abb. 1 und Tabelle 1. Proteinzunahme bei 10 mm langen wachsenden Vorderstücken (*V*) und nichtwachsenden Hinterstücken (*H*). Zellen am Tage 0 kurz vor Hutbildung stehend; Durchschnittswerte von Teilen aus sieben verschiedenen Nachzuchten, in fünf Nachzuchten *V* und *H* von denselben Pflanzen, in zwei Serien von verschiedenen Nachzuchten stammend

2. Gleich lange Vorderstücke von Pflanzen verschiedener Nachzuchten wachsen, wie schon angeführt wurde, nicht immer gleich gut. Für die hier verfolgten Ziele wurden absichtlich Serien von sehr unterschiedlich wachsenden Vorderstücken verglichen. Unter Wuchsleistung ist dabei die Stiel-, Wirtel- und Hutbildung zu verstehen (HÄMMERLING 1934a, 1953, 1957). Alle Vorderstücke der 5 hierauf näher geprüften Nachzuchten bildeten etwa 5—6 mm neuen Stiel und 1—2 Wirtel, sie unterschieden sich vor allem in der Hutbildung: 0—60% Hüte, wobei diese Durchmesser bis zu 4—5 mm erreichen konnten (Abb. 2 und Tabelle 2).

Werden die 5 Serien a—e absteigend nach ihrer Wuchsleistung geordnet, so ergibt sich eine eindeutige Beziehung zum Umfang ihrer Proteinsynthese. Diese war bei den am besten wachsenden Vorderstücken (a) am höchsten, bei den am schlechtesten wachsenden (e) am geringsten (Abb. 2; Kurve f bezieht sich auf unten zu besprechende Versuche von VANDERHAEGHE 1954). Nur die Vorderstücke der Nachzucht d mit 2% Hüten fallen wohl etwas aus der Reihe; ihre Proteinzunahme war nach

Abb. 2

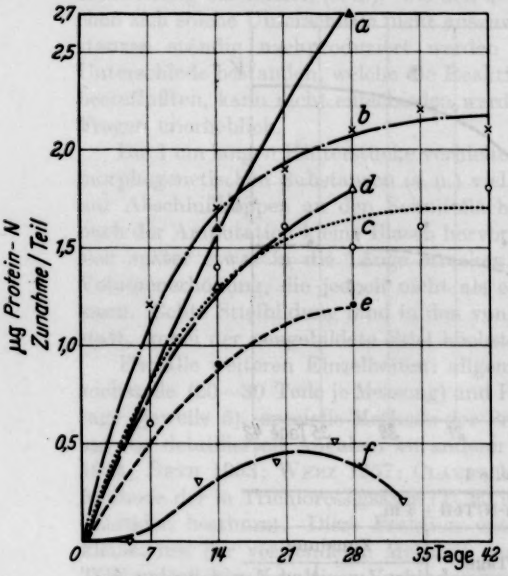


Tabelle 2

Volumenzunahme	Protein-N-zunahme µg/Teil in 28—42 Tagen	Protein-N-zunahme % in 28—42 Tagen	Anfangs-Protein-N-gehalt µg/Teil
a) Stiel + ~60% Hüte	> 2,7	> 270	1,0
b) Stiel + ~30% Hüte	2,1	233	0,9
c) Stiel + ~10% Hüte	1,8	150	1,2
d) Stiel + ~2% Hüte	1,8	200	0,9
e) Stiel + 0% Hüte	1,2	100	1,2
f) wenig Stiel + 0% Hüte	0,54	42	1,28

Abb. 2 und Tabelle 2. Korrelation zwischen Wachstum und Proteinzunahme bei verschieden stark wachsenden 10 mm langen Vorderstücken aus fünf Nachzuchten (a—e). f Ebenso nach VANDERHAEGHE (1954), Vorderstücke 16,8 mm lang. a—f Zellen am Tage 0 kurz vor Hutbildung stehend

4 Wochen bereits ebenso hoch wie die der Serie c mit 10% Hüten nach 6 Wochen. Ob in Serie d eine Kompensation durch Bildung merklich längerer Stiele erfolgte, wurde nicht in ausreichendem Maße geprüft.

Noch im schlechtesten Falle (Serie e) betrug die Protein-N-Zunahme 1,2 µg (100%), im besten Falle (Serie a) lag sie über 2,7 µg (über 270%). Diese Serie wurde nur bis zur 4. Woche geprüft. Die Geschwindigkeit der Zunahme war zu diesem Zeitpunkt noch nicht erkennbar vermindert, das Ende der Zunahme also noch nicht erreicht. Die übrigen Serien tendierten nach etwa 4 Wochen zum Stillstand, was bei den nichtwachsenden Hinterstücken schon nach etwa 14—20 Tagen der Fall war.

Die ersten direkten Protein-N-Bestimmungen sind VANDERHAEGHE (1954) zu verdanken. Die kernhaltigen Teile wuchsen durchaus gut, was auch für ihre Proteinzunahme gilt (s. Methodik und Abb. 2 in HÄMMERLING

und WERZ 1958), aber die Proteinzunahme in den Vorderstücken betrug nur 0,54 μg bzw. 42%, war also noch geringer als durchschnittlich bei den von uns untersuchten nichtwachsenden Hinterstücken (Abb. 2, Serie f). Die Ausgangslänge der Teile betrug zwar 16,8 mm, aber die Wuchsleistung war mit nur 2,3 mm Stielbildung ohne Hüte gering. Ist also die sehr geringe Proteinzunahme auf schlechtwachsendes kernloses Material zurückzuführen, so ergibt sich doch eine erwünschte Bestätigung der Korrelation zwischen Wuchsleistung und Proteinproduktion.

Auf das verwendete Material dürfte es auch zurückzuführen sein, daß VANDERHAEGHE etwa vom 28. Tage an eine Abnahme des Proteingehalts feststellte, während es bei den von uns und auch den von CLAUSS (1958), CLAUSS und WERZ (unveröff.) und RICHTER (1958, 1959b) verwendeten offenbar lebenskräftigeren Teilen nur zu einem Stillstand kam, auch bei den Hinterstücken. Dem Stillstand geht ein allmähliches Absinken der Zunahme voraus. Der plötzliche aus der Abb. 9 ablesbare Stillstand in den Versuchen von BRACHET u. Mitarb. (1955) weist auf von dieser Zeit ab störende Außenbedingungen hin. Er liegt nicht an dem unterschiedlichen Altersstadium (Zellen mit Hut in Anlage), wie spezielle Versuche von CLAUSS und WERZ (unveröff.) gezeigt haben (s. auch HÄMMERLING et al. 1958).

Vergleichende Untersuchungen über die Geschwindigkeit der Proteinsynthese an kernhaltigen Zellen oder ihren Teilen aus den gleichen Nachzuchten konnten nicht durchgeführt werden. Sie verläuft in den von uns gewählten Altersstadien linear, wie aus den eben angeführten Arbeiten sowie denen von VANDERHAEGHE (1954), HÄMMERLING und WERZ (1958), HÄMMERLING et al. (1958) hervorgeht. Über 1—2 Wochen verläuft sie weiterhin, wie diese an zahlreichen Nachzuchten durchgeführten Versuche gezeigt haben, in kernlosen Vorderstücken von 1 cm und größerer Länge meist ebenso schnell wie bei den entsprechenden kernhaltigen Zellen, danach langsamer. Die von BRACHET u. Mitarb. (1955, Abb. 9) ermittelte über 18 Tage laufende, erheblich größere Geschwindigkeit in kernlosen Vorderstücken stellt einen Ausnahmefall dar.

3. Die geschilderten Befunde zeigen, daß die Frage, wie groß die Proteinsynthese eines kernlosen Teiles sei, ihren eigentlichen Sinn erst dann erhält, wenn sie auf die *Wuchsleistung* des Teilstückes bezogen wird. Ohne diese Beziehung kann man auch bei direkten Proteinbestimmungen nicht mehr sagen, als im Grunde schon seit den ersten Versuchen an *Acetabularia* deutlich war, daß sie nämlich sehr hoch sein kann (HÄMMERLING 1934a, b). Weiterhin muß die absolute Länge des Ausgangsteiles in Rechnung gestellt werden. Würden z. B. verschieden lange Vorderstücke von Zellen der gleichen Nachzucht verglichen werden, so würde die Wuchsleistung mit der Ausgangslänge ansteigen, wobei dahingestellt bleiben kann, ob ein Höchstwert erreicht wird, der bei noch größerer Ausgangslänge nicht überschritten wird (HÄMMERLING 1934a, 1953, 1957). Parallel würde die absolute Proteinzunahme ansteigen, aber

es würden sich in der relativen Zunahme zum Ausgangs-Proteingehalt Senkungen ergeben. Aus diesem Grunde geben die absoluten Zunahmen das richtigere Bild, vor allem auch deshalb, weil die Proteinzunahme in weiten Grenzen von dem Ausgangs-Proteingehalt unabhängig ist, wie schon die hier geschilderten Versuche zeigen (vgl. auch HÄMMERLING 1957; HÄMMERLING et al. 1958; WERZ 1959).

Da wir uns auf 10 mm lange Vorderstücke beschränkten, längere Teile aber besser wachsen, ist der von uns gefundene Höchstwert von 2,7 μg natürlich nicht der überhaupt erreichbare Höchstwert. CLAUSS (unveröff.) fand bei 30—40 mm langen Vorderstücken, das sind ganze kernlose Zellen, denen hinten nur das Rhizoid fehlte, eine Zunahme um ca. 9 μg Proteinstickstoff. Das ergibt, multipliziert mit dem üblichen Faktor 6,25, die enorme Zunahme der Gesamtproteine im Cytoplasma und den Chloroplasten von 56 μg. CLAUSS verwendete Zellen, deren Hut sich in erster Anlage befand. Bei ebenso langen und kürzeren (20 mm langen) Zellen von *A. crenulata* fand WERZ (unveröff.), auch wenn der Hut noch nicht angelegt war, eine Zunahme von 7 μg Proteinstickstoff. BRACHET u. Mitarb. (1955) fanden eine Zunahme um 2 μg. (Vorderstücke meist mit Hut in Anlage, absolute Längen unbekannt, jedoch wohl sicher größer als 10 mm. Die Vorderstücke betrugen $^2/_3$, die kernhaltigen Hinterstücke $^1/_3$ der jeweiligen Stiellänge. Die Länge der Vorderstücke war verschieden; denn der Hut wird bei wechselnden Stiellängen angelegt.)

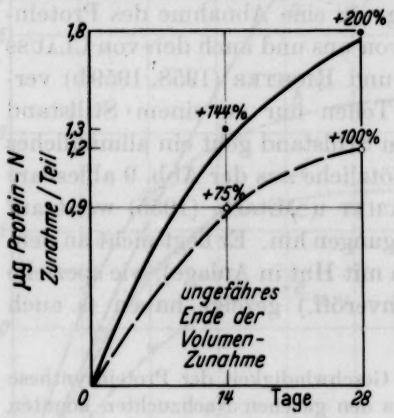


Abb. 3. Zwei Serien von 10 mm langen Vorderstücken, deren Proteinzunahme länger dauerte als ihr Wachstum

4. Ein Vergleich der zu der gleichen Serie gehörenden Vorder- und Hinterstücke ergibt, daß der Umfang der Proteinsynthese der nichtwachsenden Hinterstücke nicht fest mit dem der zugehörigen Vorderstücke korreliert ist (Tabelle 3). Stets aber lag sie unterhalb der der Vorderstücke. Das Maximum war Δ 1,3 μg Proteinstickstoff.

5. In 2 Serien von Vorderstücken dauerte die Proteinzunahme offenbar länger als das Wachstum (Abb. 3). Beide Fälle sind nicht ganz sicher. In der ersten Serie, die keine Hüte bildete, war zwar die Stielverlängerung mit Sicherheit nach 2 Wochen zu Ende gekommen, aber die danach erfolgende Proteinzunahme betrug nur weitere 25%. Im zweiten Falle betrug der Proteinanstieg von der 2. bis zur 4. Woche zwar 66%, jedoch war hier nicht ganz sicher, ob das Wachstum schon am Ende der 2. Woche zum Stillstand gekommen war. Inzwischen sind aber

Tabelle 3. *Protein-N-Zunahmen der Vorder- und Hinterstücke von 5 verschiedenen Serien.* (µg N/Teil nach 28—42 Tagen; Bezeichnung der Nachzuchten wie in Abb. 2; Hinterstücke der Nachzucht a aus unbekannten Gründen ungewöhnlich geringe Zunahme)

Nachzucht	a	b	c	d	e
V	2,7	2,1	1,8	1,8	1,2
H	0,4	1,3	0,7	0,8	0,9
Anfangs-N-Gehalt für *H*	1,5	1,7	1,9	2,0	2,0 µg

Anfangs-N-Gehalt für *V* s. Tabelle 2

weitere sichere Fälle hinzugekommen (CLAUSS 1958). Solche Teile verhalten sich also — cum grano salis — nach Beendigung ihres Wachstums wie nichtwachsende Hinterstücke von Anfang an: die Proteinsynthese ist unabhängig vom Wachstum.

Diskussion

Die Ergebnisse sind in zweierlei Richtung von Interesse: einmal hinsichtlich der Beziehungen zwischen Proteinsynthese und Wachstum der Zelle, zweitens hinsichtlich der Art der Kernabhängigkeit beider Vorgänge.

1. Zellwachstum ist in erster Linie Volumenvergrößerung. Bei *Acetabularia* ist jede Art der normalen Volumenvergrößerung mit Proteinnettosynthese verbunden: Stielneubildung durch Spitzenwachstum, späterhin Hutwachstum, ferner Stielverdickung und sekundäre Streckung (HÄMMERLING 1958 und unveröff.; HÄMMERLING und WERZ 1958). Bisher wurde noch keine Ausnahme von dieser für kernhaltige wie kernlose Zellen geltenden Regel gefunden. Besteht also in dieser Hinsicht eine enge Koppelung zwischen Wachstum und Proteinnettosynthese, d. h. gilt bislang der Satz „Kein Wachstum ohne Proteinsynthese", so gilt die Umkehrung des Satzes „Ohne Wachstum keine Proteinsynthese" nicht. Denn in den kernlosen nichtwachsenden Hinterstücken erweist sich die Proteinsynthese als vom Wachstum unabhängig. Das gleiche ist der Fall, wenn bei wachsenden Vorderstücken die Proteinsynthese länger dauert als das Wachstum. Demnach ist die Proteinproduktion vielleicht notwendige, sicher jedoch nicht hinreichende Bedingung für das Wachstum der Zelle. Das läßt sich nur durch das Verhalten der nichtwachsenden kernlosen Teile erkennen, gilt aber natürlich auch für die kernhaltige Zelle. Proteinsynthese allein verursacht noch keine Volumenvergrößerung, insbesondere kein Spitzenwachstum. Dieses wird bei *Acetabularia* vielmehr durch die direkt kernabhängige Produktion und Wirksamkeit „morphogenetischer Substanzen" hervorgerufen. Eben diese aber sind in den kernlosen Hinterstücken

nicht in ausreichender Menge vorhanden (s. u.). Bei den Zellen anderer Organismen ist zwar nichts über morphogenetische Substanzen bekannt, doch liegt bei *Spirogyra* (v. WISSELINGH 1909) wahrscheinlich ein Parallelfall vor: nichtwachsende kernlose Zellen erhöhen wahrscheinlich ebenfalls ihren Proteingehalt (vgl. Abschnitt 7). Auch bei Amöben und anderen mit Proteinzunahme wachsenden Zellen dürfte die Volumenvergrößerung des Zellkörpers nicht als quasi automatische Folge der Proteinproduktion anzusehen sein.

Hinsichtlich unseres Objektes ist folgende Spezifizierung zu diesen Zusammenhängen möglich. In Dunkelheit werden bei Vorhandensein wie Fehlen des Kernes sowohl Wachstum als auch Proteinsynthese reversibel gestoppt (HÄMMERLING 1944, 1957; BRACHET et al. 1955; STICH 1956). Beide Vorgänge bedürfen also der Photosynthese. Auch in belichteten kernlosen Zellen läuft die Photosynthese weiter (BRACHET et al. 1955). Wie die Ergebnisse zeigen, sind die Mechanismen zur Proteinsynthese über die ganze Zelle verteilt und bleiben auch nach Entfernung des Kernes noch eine Zeitlang funktionstüchtig (vgl. hierzu Abschnitt 4). Daher kann die weiter transformierte Lichtenergie in aus jeder Stielregion stammenden kernlosen Teilen zur Proteinproduktion verwendet werden, zum Wachstum kann sie jedoch nur verwendet werden, sofern ausreichende Mengen an „morphogenetischen Substanzen" zur Verfügung stehen (HÄMMERLING 1934a, 1953, 1957; J. u. CH. HÄMMERLING 1959). Das ist aber, wie eben schon gesagt wurde, in der hintersten Stielregion nicht der Fall. Auf diese Weise wird die Tatsache verständlich, daß die Abnahme der Wuchsfähigkeit kernloser Teile, die einem apikal-basalen Gefälle folgt, nicht auch zum Aufhören der Proteinzunahme führt.

Dieser Umstand ist nicht so unerwartet, wie es auf den ersten Blick scheint. Bereits 1934 wurde gefunden, daß kernlose Teile, die einen starken Cytoplasma- und Plastidenverlust erfahren hatten, ihren Plastidenspiegel wieder heben können, mitunter offenbar bis auf das alte Niveau (HÄMMERLING 1934b). Das bedeutet aber starke Proteinsynthese in den Plastiden und sicher auch im Cytoplasma. Erfolgte dort die Hebung des Proteinspiegels von einem unterschwelligem Niveau aus, so erfolgt sie bei den hier untersuchten Zellteilen über das normale Niveau hinaus.

Wir hatten es im Vorstehenden mit der Unabhängigkeit der Proteinsynthese vom Wachstum zu tun, nicht mit dem umgekehrten Problem, ob ein Wachstum ohne Proteinsynthese vorkommt. Möglicherweise ist das zweite bei der sekundären Streckung von Zellen einiger höherer Pflanzen der Fall. Im einzelnen sind die Verhältnisse bei diesen jedoch noch weitgehend ungeklärt (SÖDING 1952, S. 239). Es sei deshalb wiederholt, daß bei *Acetabularia* auch die sekundäre Zellstreckung, die sich an der Verlängerung des Abstandes der Wirtelansatzstellen leicht ablesen läßt (HÄMMERLING 1934a, 1934b), offenbar mit einer Proteinsynthese verbunden ist (HÄMMERLING unveröff.).

2. Die hier durchgeführten Proteinbestimmungen beziehen sich auf den Gesamtgehalt in Cytoplasma und Plastiden. Sie geben daher keine Auskunft, ob beide Fraktionen oder nur die eine vermehrt werden. Inzwischen liegen durch die Arbeiten von CLAUSS (1958) auch hierzu klare Ergebnisse vor. Nicht nur in den wachsenden, sondern auch in den nichtwachsenden Teilen werden beide Fraktionen vermehrt. Das Fehlen des Wachstums bei den Hinterstücken liegt also nicht an dem Fehlen einer Zunahmefähigkeit der cytoplasmatischen Proteine. Es liegt auch nicht, wie hinzugefügt sei, an der Unfähigkeit, Membran zu bilden; diese wird gebildet, nur in der falschen Richtung, nämlich nur durch Apposition an die vorhandene, sich dadurch verdickende Membran (WERZ 1957).

Weiter fand CLAUSS (1958), daß die Zunahme der cytoplasmatischen Proteine in den nichtwachsenden Teilen sogar ebenso hoch ist wie in den wachsenden. Die höhere Zunahme in den Vorderstücken entfällt also auf die Chloroplastenproteine. Das läßt sich aus zwei Umständen heraus- wenigstens in gewissem Umfange verstehen. Einmal ist die Erhöhung des Proteingehaltes von Plastiden an deren Wachstum gebunden. Die Stielspitze ist aber ein Ort besonders hoher Anhäufung von auswachsenden, vielleicht auch noch sich teilenden Plastidenanlagen (HÄMMERLING 1934a, 1957; CLAUSS 1958). Zum anderen wird durch die Bildung neuen Stieles und eines Hutes zusätzlicher Raum geschaffen, so daß, solange Wachstum erfolgt, die Voraussetzung für eine der Norm entsprechende oder doch ähnelnde Partikel- und Substanzverteilung gegeben ist, nicht nur für die Plastiden, sondern auch für die zahlreichen anderen Substanzen und Partikel, die an Menge nach der Entfernung des Kernes noch zunehmen (vgl. hierzu HÄMMERLING et al. 1958; Tabelle 1). Die Plastiden ähneln in dieser Hinsicht den Polyphosphatgrana. Diese bilden sich in großer Zahl in den wachsenden Teilen, in den nichtwachsenden Teilen nehmen im wesentlichen nur die vorhandenen Grana an Größe zu (STICH 1953, 1956).

Bedenkt man hierzu noch, daß in den nichtwachsenden kernlosen Teilen eine Überfüllung nicht nur mit Proteinen, sondern auch mit den verschiedensten Substanzen erfolgt, so würde man speziell für empfindliche Synthesemechanismen erwarten können, daß sie in den nicht wachsenden Hinterstücken eher in Mitleidenschaft gezogen werden als in den wachsenden Vorderstücken. In der Tat nehmen eine Reihe von Substanzen in diesen stärker zu als in den nichtwachsenden Teilen (HÄMMERLING et al. 1958, Tabelle 1). Für den Ablauf der Synthese cytoplasmatischer Proteine ist es aber, wie wir sahen, unerheblich, ob sie in einem wachsenden oder nichtwachsenden Teilstück erfolgt. Diese „Unempfindlichkeit" ist also viel auffälliger, als es das Gegenteil wäre. Wir können dabei dahingestellt sein lassen, ob die Befunde von CLAUSS (1958), von denen wir hier ausgingen, unter allen Umständen gelten.

Eine andere Frage ist, ob in der Zusammensetzung aus den definierten Einzelproteinen Verschiebungen eintreten, nicht nur zwischen Plastiden- und cytoplasmatischen Proteinen in den kernlosen Vorder- und Hinterstücken, sondern auch gegenüber kernhaltigen Teilen. Es sei hierzu darauf hingewiesen, daß entgegen den Angaben von BRACHET u. Mitarb. (1955) Ribonucleinsäure und damit wohl auch deren Proteinanteil an der Zunahme des Gesamt-Proteingehaltes unbeteiligt ist (RICHTER 1957, 1959a, 1959b; NAORA, RICHTER and NAORA 1959). Das ist überraschend, nachdem die Proteinsynthese in so erheblichem Maße weiterläuft, wie wir sahen, Δ bis zu 56 μg. Hinsichtlich spezifischer Proteine, die nach Entfernung des Kernes noch zunehmen, fand CLAUSS (1959) für Phosphorylase eine länger dauernde Synthese als für andere Zell-Proteine. Offensichtlich erfolgen also mit der Zeit Verschiebungen im Mengenverhältnis definierter Einzelsubstanzen gegenüber der für kernhaltige Zellen geltenden Norm. Sie sind jedoch nicht allgemeine Regel, wie die Untersuchungen RICHTERS (1958) an 5 verschiedenen Carotinoiden zeigen.

3. Es ist für *Acetabularia* als eine photosynthetisierende Zelle selbstverständlich, daß sowohl Wachstum als auch Proteinsynthese vom Grade der Belichtung abhängig sind. Das gilt nicht nur für kernhaltige Zellen (Abb. 2 in HÄMMERLING und WERZ 1958), sondern auch für wuchsfähige kernlose Teile (BETH 1953, 1955). Auch bei diesen wird durch Abschwächung der Belichtung dieselbe Wuchsleistung wie bei stärkerer Belichtung erreicht. Das Wachstum verläuft also wie bei den kernhaltigen Zellen nur langsamer, was auch für die nicht gesondert gemessene Proteinsynthese angenommen werden darf (s. auch HÄMMERLING 1957). Aber auch bei gleichbleibender Belichtung besteht eine enge Korrelation zwischen dem Grade der Volumenvergrößerung (Stielbildung) und Proteinsynthese, wie sich durch die Untersuchung der Normalentwicklung aus der Zygote und an extrem verkleinerten kernhaltigen Teilen erwachsener Zellen gezeigt hat. Auch diese ist auf die Photosynthese-Verhältnisse zurückzuführen (HÄMMERLING 1958; HÄMMERLING und WERZ 1958).

Die unterschiedlich wachsenden kernlosen Vorderstücke zeigen eine weitere Beziehung zwischen beiden Vorgängen: *Der Umfang des Wachstums ist begrenzender Faktor für den Umfang der Gesamt-Proteinproduktion.* Wenn diese Auffassung richtig ist, so sollte die Proteinproduktion ansteigen, wenn es gelänge, die Wuchsleistung kernloser Teile zu steigern. Dieser Gedanke war experimenteller Prüfung zugänglich (HÄMMERLING und STICH 1956; J. u. CH. HÄMMERLING 1959). Kernhaltige Teile, die nur 1 cm Stiel, also das hinterste Stielstück, besaßen, wurden verdunkelt. Nach bestimmten Zeiten wurde der Kern entfernt und das nunmehr

kernlose Hinterstück wieder belichtet. Während in Dunkelheit kein Wachstum und keine Proteinzunahme erfolgten (WERZ unveröff.) und sich im übrigen die Zelle und auch der Kern auf Abbau umstellten (STICH 1956; BRACHET et al. 1955), war trotzdem der Kern bei abgestoppter Photosynthese aktiv im Hinblick auf die Abgabe von Vorstufen morphogenetischer Substanzen an die Zelle geblieben, wie auch aus andersartigen Versuchen von WERZ (1959) hervorgeht. Diese sonst kaum wuchsfähigen Teile wuchsen daher nach Wiederbelichtung gut aus. Offenbar als *Folge* des kerninduzierten Wachstums nahm aber auch die Proteinproduktion stark zu (HÄMMERLING et al. 1958; WERZ unveröff.). Zwar liegt kein experimentum crucis vor, aber in Verbindung mit den vorstehend geschilderten übrigen Verhältnissen bei kernlosen Teilen liegt bisher kein Grund zur Annahme vor, daß auch die Proteinsynthese durch hierauf gerichtete spezifische Kernwirkungen gesteigert wurde.

4. Die Tatsache, daß kernlose Vorderstücke weiterwachsen und Proteine synthetisieren, in der ersten Zeit oft sogar ebensoviel wie bei Vorhandensein des Kernes, könnte Veranlassung zu einem Vergleich mit einem aufgezogenen und nach Entfernung des Kernes nur noch ablaufenden Uhrwerk geben. Ein solcher Vergleich würde aber aus verschiedenen Gründen fehlgehen, schon deshalb, weil z. B. der Umfang der Proteinzunahme nicht etwa vom Vorrat an freien Aminosäuren abhängt. Auch diese werden synthetisiert, wahrscheinlich sogar über einen längeren Zeitraum als Proteine (GIARDINA 1954; BRACHET et al. 1955).

In den kernlosen Hinterstücken werden die zur Proteinzunahme führenden Mechanismen sogar erst nach der Entfernung des Kernes und *durch* sie aktiviert. Solange sich die hinterste Stielregion im gesamten kernhaltigen Zellverbande befindet, nimmt ihr Proteingehalt in dem von uns gewählten Entwicklungsstadium kaum zu (was natürlich nicht ausschließt, daß dort eine Proteinnettosynthese erfolgt, wobei Aufbau und Abbau ungefähr im Gleichgewicht stehen würden; WERZ unveröff.). Diese Konstanz kommt nicht dadurch zustande, daß dort doch eine Proteinzunahme erfolgt, die Proteine jedoch laufend an die wachsende Stielspitze abgegeben werden. Aus verschiedenartigen Befunden geht vielmehr hervor, daß in wachsenden Zellen die Stielspitze der Hauptsyntheseort ist (HÄMMERLING 1934a, S. 57, Abb. 25, und S. 75; RICHTER 1959; WERZ, unveröff.). Das gilt übrigens auch für die RNS (RICHTER 1959), was ein erhebliches Argument dafür ist, daß in Gegenwart des Kernes die RNS-Nettosynthese ganz oder doch größtenteils cytoplasmatischer Art ist (vgl. hierzu für Amöben GOLDSTEIN und PLAUT 1955; PLAUT 1958).

5. Zusammenfassend läßt sich über die Beziehungen zwischen Wachstum und Proteinsynthese der Zelle feststellen: *Weder ist Wachstum für*

die Proteinzunahme erforderlich, noch führt Proteinzunahme allein schon zum Wachstum. Wächst die Zelle, so sind Proteinsynthese und Wachstum eng korreliert. Jedoch wächst eine Zelle nicht um so besser, je mehr Proteine sie bildet, sondern sie bildet um so mehr Proteine, je besser sie wächst.

6. Es bleibt nun die *Art* der Kernabhängigkeit des Wachstumes und der Proteinsynthese zu besprechen. Für die zum Wachstum führenden Prozesse ist durch die bereits angeführten Versuche über die Kernaktivität bei aufgehobener Photosynthese definitiv gezeigt worden, daß sie an ihrer Basis unmittelbar kernabhängig sind. Der Kern gibt Vorstufen der morphogenetischen Substanzen an das Cytoplasma ab. Der Umfang des Wachstums, das von ihnen nach lichtabhängigen Umsetzungen zur aktiven Form induziert wird, ist durch ihre Menge im Augenblick der Kernelimination begrenzt. Für alle Einzelheiten, welche diese ihrer Natur nach unbekannten, aber realen Substanzen betreffen, kann hier auf die Zusammenstellungen an anderer Stelle verwiesen werden (BETH 1953, 1955; HÄMMERLING et al. 1958; J. u. CH. HÄMMERLING 1959)[1].

Die Proteinsynthese dagegen ist nur sehr indirekt kernabhängig. Einmal nimmt der Proteingehalt nach Entfernung des Kernes erheblich zu, zum anderen ist die Zunahme in weiten Grenzen nicht vom Ausgangsgehalt der Proteine abhängig. Schließlich werden bei den kernlosen Hinterstücken die zur Proteinzunahme führenden Mechanismen sogar erst nach Entfernung des Kernes aktiviert.

Mit bis zu 9 μg Zunahme an Proteinstickstoff ist die extranucleäre Proteinsynthese so hoch, daß der Kern nicht mehr als ein Haupt-Proteinsynthese-Zentrum für die Zellproteine betrachtet werden kann (CASPERSSON 1950). Außer der Proteinsynthese laufen zudem zahlreiche andere Nettosynthesen nach Entfernung des Kernes in hohem Umfange ab und erweisen sich damit ebenfalls als nur indirekt kernabhängig. Sie sind an anderer Stelle aufgezählt worden (HÄMMERLING et al. 1958). Auch von diesem Gesichtspunkt aus gesehen, wäre es eher überraschend, wenn die Proteine eine Ausnahme darstellen würden. Jedenfalls sind

[1] Wir haben es in dieser Arbeit nicht mit Problemen der Morphogenese als solcher zu tun, sondern mit Wuchsproblemen. Trotzdem kann die pauschale alte Bezeichnung „morphogenetische bzw. formbildende Substanzen" (HÄMMERLING 1934a; HÄMMERLING et al. 1958) beibehalten werden, schon deshalb, weil jedes Zellwachstum zugleich Morphogenese ist: *Acetabularia mediterranea* wächst als *mediterranea* und nicht als *crenulata*. Außerdem ist der Begriff „Wuchsstoffe" bereits für Substanzen wie Auxin, Biotin usw. belegt. Vorläufige Untersuchungen mit Substanzen dieser Art haben bisher keinen Anhaltspunkt ergeben, daß sie in kernlosen Hinterstücken Wachstum induzieren. Dieses wäre das entscheidende Kriterium. Ob aus dem Kern wirklich Vorstufen oder die definitiven Substanzen entlassen werden, ist hier unerheblich.

Zahl und Umfang der nur indirekt kernabhängigen extranucleären Prozesse viel größer, als man früher zu erwarten geneigt war. Dabei wurde freilich von den sehr geringen Leistungen kernloser Amöben ausgegangen (BRACHET 1955) (s. hierzu auch Abschnitt 7). Geht man dagegen von der Tatsache aus, daß ausreichend große Vorderstücke von *Acetabularia* ohne Kern über die erste Zeit hinsichtlich Stiel-, Wirtel- und Hutbildung ebenso schnell und vollkommen wachsen können wie mit Kern, so müssen Biosynthesen, die gleich nach Entfernung des Kernes eingestellt werden oder schnell absinken, viel auffälliger sein als die weiter in Funktion bleibenden. In diesem Zusammenhange müssen noch folgende Überlegungen angestellt werden.

a) Auch bei stärkster Proteinzunahme nach Entfernung des Kernes ist natürlich die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß ein quantitativ zunächst nicht faßbarer, aber physiologisch wesentlicher Teil bestimmter Proteine aus dem Kern stammt oder ihre cytoplasmatische Synthese in ähnlich direkter Beziehung zum Kern steht, wie es hinsichtlich des Wachstums der Fall ist. Das ist vielleicht bei *Amoeba proteus* der Fall, jedoch sind andere Deutungsmöglichkeiten nicht ausgeschlossen (MAZIA und PRESCOTT 1955).

b) Es wird generell naheliegen, eine direkte Kernabhängigkeit zu vermuten, wenn eine Zell-Substanz nach Entfernung des Kernes nicht mehr zunimmt. Das gilt, wie wir sahen, außer den „morphogenetischen Substanzen" für die RNS. In kernlosen Amöben nimmt sie schnell und stark ab (BRACHET 1955), was im Hinblick auf die generell geringen Leistungen kernloser Amöben wohl nicht als zufällige Parallelerscheinungen anzusehen ist. Trotzdem genügen solche Befunde allein noch nicht, die Annahme einer direkten Kernabhängigkeit zu begründen (vgl. HÄMMERLING et al. 1958). In dieser Hinsicht stellen die Chloroplastenproteine ein demonstratives Beispiel dar: ihr Synthesegrad ist in Vorder- und Hinterstücken verschieden, aber offenbar nur deshalb, weil die Chloroplasten als solche verschieden stark betroffen werden, auch diese aber nur aus sekundären Gründen. Es ist in diesem Falle ausgeschlossen, daß eine unterschiedliche Art der Kernabhängigkeit vorliegt, da es sich um dieselbe Zelle handelt.

Als gegenwärtiger Stand des Problemes der Art der Kernabhängigkeit der extranucleären Prozesse bei *Acetabularia* ergibt sich nach den vorstehenden Erörterungen: *Die einzigen Substanzen, von denen man zur Zeit mit Sicherheit sagen kann, daß sie direkt kernabhängig seien, sind Vorstufen (eine oder mehrere) der „morphogenetischen Substanzen".* (Dieser Schluß beruht nicht nur auf dem eben erörterten Umstand, daß sie nach Entfernung des Kernes nicht mehr zunehmen, sondern auch auf den anderen angeführten Argumenten.) *Die Proteinbildung dagegen ist*

indirekt kernabhängig. Was unter dieser „indirekten Abhängigkeit" zu verstehen ist, läßt sich noch nicht näher definieren. Bisher hat sich noch keine spezifische Ursache ausfindig machen lassen, welche zum Erlöschen der Proteinsynthese nach Entfernung des Kernes führt. Hypothesen (BRACHET u. CHANTRENNE 1956) und Denkmöglichkeiten (HÄMMERLING 1957, S. 96), daß ein Vorrat von Substanzen, die in spezifischer Weise für die Proteinsynthese nötig seien, erschöpft würde, dürften nach den Ergebnissen der hier besprochenen Versuche nicht zutreffen, ganz abgesehen von der Frage, ob solche Substanzen als direkt kernabhängig anzusehen sind. Die Synthese von Aminosäuren z. B. — noch fraglich ob aller — ist trotz ihrer strengen Genabhängigkeit nur indirekt kernabhängig, darüber hinaus scheinen sie länger synthetisiert zu werden als Proteine (vgl. Abschnitt 4 und HÄMMERLING 1957, S. 95).

7. Die Auffassung, daß alle Zellen extranucleäre Zentren der Proteinsynthese besitzen, ist heute gut begründet. Sie besagt aber noch nichts darüber, in welcher Beziehung sie zum Kern stehen. Es fragt sich in diesem Zusammenhange, warum sie nach Entfernung des Kernes bei *Amoeba proteus* so schnell, bei *Acetabularia* so spät außer Funktion gesetzt werden, eine Frage, die auch für alle anderen Biosynthesen gilt, die bei *Acetabularia* noch ablaufen. Die Antwort liegt, wie auch BRACHET u. Mitarb. (1955) betont haben, offenbar darin, daß kernlose Acetabularien noch weiter photosynthetisieren, kernlose Amöben aber, wegen ihrer Unfähigkeit, Nahrung aufzunehmen, hungern. Werden außerdem Acetabularien unter vergleichbaren Bedingungen untersucht, werden sie nämlich verdunkelt, so verhalten sie sich im Prinzip wie Amöben. Schon oben wurde für kernhaltige Zellen angeführt, daß die Zell- und Kernprozesse dann gleich oder bald zum Stillstand bzw. Abbau kommen. Das gilt auch für kernlose Teile (STICH 1955; WERZ unveröff.). Im einzelnen mögen dabei natürlich Unterschiede bestehen, aber schon das angeführte Beispiel zeigt, daß kein Grund vorliegt, anzunehmen, *Acetabularia* sei ein Zelltyp, bei dem die Beziehungen Kern—Cytoplasma eine mit anderen Zellen nicht vergleichbare Sonderstellung einnehmen. Auch in den umgekehrten Beziehungen Cytoplasma—Kern hat sich gegenüber „normalen" Zellen kein prinzipieller Unterschied finden lassen, obwohl *Acetabularia* sich in vieler Hinsicht wie ein vielzelliger Organismus verhält und obwohl sie einen sich mehrere Monate nicht teilenden Riesenkern besitzt (HÄMMERLING 1958; HÄMMERLING und WERZ 1958). In Wirklichkeit läßt *Acetabularia* in beiden Abhängigkeits-Richtungen Erscheinungen erkennen, die bei anderen Zellen viel schwerer erforschbar sind. Es gibt zudem verschiedene Übergänge von den hohen Fähigkeiten der Acetabularien zu den sehr geringen der Amöben. Diesen an anderer Stelle aufgeführten Beispielen (BRACHET

1957; HÄMMERLING 1957) muß *Spirogyra* hinzugefügt werden, insbesondere nach den bisher übersehenen Arbeiten VAN WISSELINGHs (1909). Kernlose Spirogyren photosynthetisieren offenbar ebenfalls weiter und zeigen Syntheseleistungen, die sich infolge der Kleinheit der Zelle zwar der Quantität, aber kaum der Zahl nach von denen Acetabularias unterscheiden. Sie verlaufen sogar wie bei *Acetabularia* unabhängig davon, ob die kernlose Zelle wächst oder nicht. Auch „kernlose" unreife rote Blutkörperchen von Säugetieren vermehren ihren Proteinbestand. Es handelt sich hier um Hämoglobin, auch mögen noch Kernreste vorhanden sein. Immerhin erfolgt die Erhöhung ohne Zellwachstum (SCHWEIGER et al. 1956).

Summary

1. Not only growing enucleate fragments of *Acetabularia*, but also non growing fragments synthesize proteins to a high degree though less than growing ones. Consequently protein increase is independent of growth. This follows also from the fact, that in growing fragments protein increase can proceed for a longer time than growth. Protein increase is not a sufficient condition for growth. This holds probably also for *Spirogyra* and other cells in which protein synthesis is normally correlated with the enlarging of the cell body.

2. In growing fragments the extent of protein increase is controlled by the extent of growth, and not vice versa, as could be stated by researches on enucleate differently growing fragments. In agreement with this conclusion is the fact, that, if growth is induced in fragments which normally do not grow protein production is enhanced.

3. The kind of nuclear dependence of cytoplasmic biosynthetic activities is discussed. Growth is on its base directly nucleus dependent e. g. the production of precursors of the "morphogenetic substances". Protein synthesis, however, is only very indirectly nucleus dependent. Up to 56 μg proteins can be synthesized after enucleation, moreover the extent of protein synthesis is in far limits independent of the original protein contents, whereas growth is limited by the amount of morphogenetic substances present within a fragment at the moment of enucleation.

It may be mentioned, that a review of the problems discussed in this paper and other ones concerning nucleo-cytoplasmic relationships is given in HÄMMERLING et al. (1958).

Literatur

BETH, K.: Experimentelle Untersuchungen über die Wirkung des Lichtes auf die Formbildung von kernhaltigen und kernlosen *Acetabularia*-Zellen. Z. Naturforsch. 8b, 334—342 (1953). — Unterschiedliche Beeinflussung von Wachstum und Teilung durch Veränderung von Licht und Temperatur. Z. Naturforsch. 10b,

276—281 (1955). — BRACHET, J.: Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires. I. *Amoeba proteus*. Biochim. biophys. Acta **18**, 247—268 (1955). — Biochemical cytology. New York: Acad. Press Inc. 1957. — BRACHET, J., et H. CHANTRENNE: Protein synthesis in nucleated and non nucleated halves of *Acetabularia* studied with carbon-*14* dioxyd. Nature (Lond.) **168**, 950 (1951). — The function of the nucleus in the synthesis of cytoplasmic proteins. Cold Spr. Harb. Symp. quant. Biol. **21**, 329—337 (1956). — BRACHET, J., H. CHANTRENNE et F. VANDERHAEGHE: Recherches sur les interactions biochimiques entre le noyau et le cytoplasme chez les organismes unicellulaires. II. *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **18**, 544—563 (1955). — CASPERSSON, T.: Cell growth and cell function. New York: Norton 1950. — CLAUSS, H.: Über quantitative Veränderungen der Chloroplasten- und cytoplasmatischen Proteine in kernlosen Teilen von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **52**, 334—350 (1958). — Das Verhalten der Phosphorylase in kernhaltigen und kernlosen Teilen von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **52**, 534—542 (1959). — CLAUSS, H., u. K. KECK: Über die löslichen Kohlenhydrate der Grünalge *Acetabularia mediterranea* und deren quantitative Veränderungen in kernhaltigen und kernlosen Teilen. Planta (Berl.) **52**, 543—553 (1959). — GIARDINA, G.: Role of the nucleus in the maintenance of the protein level in the alga *Acetabularia mediterranea*. Experientia (Basel) **10**, 215 (1954). — GOLDSTEIN, L., and W. PLAUT: Direct evidence for nuclear synthesis of cytoplasmic ribose nucleic acid. Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.) **41**, 874—880 (1955). — HÄMMERLING, J.: Über formbildende Substanzen bei *Acetabularia mediterranea*, ihre räumliche und zeitliche Verteilung und ihre Herkunft. Wilhelm Roux' Arch. Entwickl.-Mech. Org. **131**, 1—81 (1934a). — Regenerationsversuche an kernhaltigen und kernlosen Zellteilen von *Acetabularia Wettsteinii*. Biol. Zbl. **54**, 650—665 (1934b). — Zur Lebensweise, Fortpflanzung und Entwicklung verschiedener Dasycladaceen. Arch. Protistenk. **97**, 7—56 (1944). — Nucleo-cytoplasmic relationships in the development of *Acetabularia*. Int. Rev. Cytol. **2**, 475—498 (1953). — Nucleus and cytoplasm in *Acetabularia*. 8. Congr. Internat. de Botan., Paris. C. R. Séances et Rapp. et Communic. déposés lors du Congr. dans la Sect. **10**, 87—103 (1957). — Über die wechselseitige Abhängigkeit von Zelle und Kern. Z. Naturforsch. **13b**, 440—448 (1958). — HÄMMERLING, J., u. CH. HÄMMERLING: Kernaktivität bei aufgehobener Photosynthese. Planta (Berl.) **52**, 516—527 (1959). — HÄMMERLING, J., H. CLAUSS, K. KECK, G. RICHTER and G. WERZ: Growth and protein synthesis in nucleated and enucleated cells. Exp. Cell Res., Suppl. **6**, 210—226 (1958). — HÄMMERLING, J., u. H. STICH: Abhängigkeit des ^{32}P-Einbaues in den Nukleolus vom Energiezustand des Cytoplasmas sowie vorläufige Versuche über Kernwirkungen während der Abbauphase des Kernes. Z. Naturforsch. **11b**, 162—165 (1956). — HÄMMERLING, J., u. G. WERZ: Über den Wuchsmodus von *Acetabularia*. Z. Naturforsch. **13b**, 449—454 (1958). — MAZIA, D., and D. M. PRESCOTT: The role of the nucleus in protein synthesis in *Amoeba*. Biochim. biophys. Acta **17**, 23—34 (1955). — NAORA, H., G. RICHTER and H. NAORA: Further studies on the synthesis of RNA in enucleate *Acetabularia mediterranea*. Exp. Cell Res. **16**, 434—436 (1959). — PLAUT, W.: The nucleus and ribonucleic acid synthesis in *Amoeba proteus*. Exp. Cell. Res. Suppl. **6**, 69—77 (1958). — RICHTER, G.: Zur Frage der RNS-Synthese in kernlosen Teilen von *Acetabularia*. Naturwiss. **44**, 520—521 (1957). — Das Verhalten der Plastidenpigmente in kernlosen Zellen und Teilstücken von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **52**, 259—275 (1958). — Die Auslösung kerninduzierter Regeneration bei gealterten kernlosen Teilen von *Acetabularia mediterranea*. Planta (Berl.) **52**, 554—564 (1959a). — Die Auswirkungen der Zellkern-Entfernung auf die Synthese von RNS

und Cytoplasma-Protein bei *Acetabularia*. Biochim. biophys. Acta, im Druck (1959b). — SCHWEIGER, H., S. RAPOPORT u. E. SCHÖLZEL: Der N-Stoffwechsel bei der Erythrocytenreifung; Reststickstoffbildung und Hämoglobinsynthese. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **306**, 33—41 (1956). — SÖDING, H.: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart: Georg Thieme 1952. — STICH, H.: Der Nachweis und das Verhalten von Metaphosphaten in normalen, verdunkelten und trypaflavinbehandelten Acetabularien. Z. Naturforsch. 8b, 36—44 (1953). — Änderungen von Kern und Polyphosphaten in Abhängigkeit von dem Energiegehalt des Cytoplasmas bei *Acetabularia*. Chromosoma (Berl.) **7**, 693—707 (1956). — VANDERHAEGHE, F.: Les effets de l'énucléation sur la synthese des proteines chez *Acetabularia mediterranea*. Biochim. biophys. Acta **15**, 281—287 (1954). — WERZ, G.: Eiweißvermehrung in ein- und zweikernigen Systemen von *Acetabularia*. Experientia (Basel) **13**, 79 (1957). — Membranbildung bei kernlosen wachsenden und nichtwachsenden Teilen von *Acetabularia mediterranea*. Z. Naturforsch. **12**b, 739—740 (1957). — Weitere Untersuchungen zum Problem der Kernaktivität bei gesenktem Zellstoffwechsel. Planta (Berl.) **52**, 528—533 (1959). — WISSELINGH, C. VAN: Zur Physiologie der Spirogyrazelle. Beih. bot. Zbl., Abt. I, **24**, 133—210 (1909).

Dr. G. WERZ, Prof. Dr. J. HÄMMERLING,
Max-Planck-Institut für Meeresbiologie, Wilhelmshaven, Anton-Dohrn-Weg

Planta, 53, 162—177 (1959)

Aus dem Institut für Entwicklungsphysiologie, Universität zu Köln

DER BEFRUCHTUNGSVORGANG BEI *IMPATIENS GLANDULIFERA* ROYLE UNTER BERÜCKSICHTIGUNG DER PLASMATISCHEN ORGANELLE VON SPERMAZELLE, EIZELLE UND ZYGOTE

Von

WALDTRAUT RICHTER-LANDMANN

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 30. Januar 1959)

A. Einleitung

Die Entwicklung des weiblichen und männlichen Gametophyten von *Impatiens glandulifera* ROYLE ist in mehreren Untersuchungen (STEFFEN 1948, 1951; STEFFEN und LANDMANN 1958a, b) beschrieben worden. Dabei wurde in den letzten Jahren beim männlichen Geschlecht das Verhalten der Plasmabestandteile mitberücksichtigt, um die ablaufenden Differenzierungsvorgänge auch von diesem Standpunkt aus betrachten zu können. Die Beurteilung des plasmatischen Einflusses auf die Differenzierung stößt jedoch stets auf Schwierigkeiten, da man bisher nur an bereits spezialisierten Zellen Organellzählungen durchgeführt hat. In Fortführung dieser Gedankengänge taucht darum die Frage nach den plasmatischen Verhältnissen in der Zygote auf. Damit wird gleichzeitig das Problem der plasmatischen Vererbung berührt. Die vorliegende Untersuchung stellt den Versuch dar, Aussagen über die Organellzahlen der Eizelle zu machen und den exakten Nachweis des möglichen Übertritts der gesamten männlichen Zelle in die Eizelle zu führen.

B. Ergebnisse

I. Technik

Das Material von *Impatiens glandulifera* ROYLE stammt aus dem Botanischen Garten der Universität Marburg a. d. Lahn[1]. Hinsichtlich Fixierung (nach NAWASHIN und REGAUD), Einbettung und Färbung (nach FEULGEN und ALTMANN) gelten die Angaben der vorangegangenen Arbeiten (STEFFEN und LANDMANN 1958a, b). Die Schnittdicke für die Feulgen-Präparate betrug 5—10 μ, für die Altmann-Präparate 1—3 μ.

Die Pollenschlauchkulturen zur Untersuchung der 2. Pollenkernmitose wurden auf Zucker-Gelatine-Nährboden (2,5 g Zucker, 3 g Gelatine auf 100 ml Leitungswasser) gezogen.

Optik: Die Untersuchungen wurden an einem Zeiss-Standard-Mikroskop mit dem Neofluar 1:100 (N.A. 1,30) und den Okularen 12,5mal (Beobachtungen) und

[1] Für seine Überlassung sei auch an dieser Stelle vielmals gedankt.

25mal (Zeichnungen und Zählungen) durchgeführt. Zur Verbesserung des Kontrastes wurden 2 Trichromfilter-Kombinationen verwendet. Die Zeichnungen wurden mit dem Zeichenprisma der Firma Zeiss in 3400facher Vergrößerung ausgeführt. Die Skizzen für die Zählungen der plasmatischen Bestandteile der Zellen wurden in 3000facher Vergrößerung angefertigt, um die gleichen Bezugsgrößen wie in den früheren Arbeiten verwenden zu können, wodurch ein Vergleich der Ergebnisse möglich ist: Auch hier diente eine Fläche von rund 130 μ^2 als erste, die Zellanschnittsfläche als zweite Bezugsgröße.

Zur Ermittlung des Zellwachstums wurde die gleiche Methodik verwendet wie früher. (Umrißzeichnungen der Zellanschnitte auf Millimeterpapier und Auszählung der Quadrate.)

Die statistische Sicherung der Meß- und Zählergebnisse erfolgte nach Kuckuck-Mudra (1950).

Frau Prof. Dr. C. Harte bin ich für die Überlassung des Mikroskops, des Minot-Mikrotoms und sonstige technische Unterstützung der Untersuchungen, sowie für ihre stete Anteilnahme am Fortgang der Arbeiten zu großem Dank verpflichtet.

II. Untersuchungen

1. Die Bildung der Spermazellen Die Entwicklung des männlichen Gametophyten ist in den früheren Arbeiten (Steffen und Landmann 1958a, b) bis zum Stadium des zweizelligen Pollenkorns (PK) untersucht worden. Damit wurde der Anschluß an die Arbeit von Steffen (1951) hergestellt, in der unter anderem die Entstehung der Spermazellen von *Impatiens glandulifera* eingehend beschrieben wird. Deswegen erübrigt sich an dieser Stelle eine Wiederholung, zumal die Befunde an neuem Material aus verschiedenen Jahren bestätigt werden konnten.

Im Zusammenhang dieser Untersuchungen interessierte das Verhalten der plasmatischen Bestandteile der Spermazellen, das bisher unberücksichtigt blieb. Die Teilung der generativen Zelle vollzieht sich erst im Pollenschlauch (PS). Fast ausnahmslos verläßt bei der Pollenkeimung zuerst der vegetative Kern das PK, dann folgt die generative Zelle, wobei sie eine längliche Form annimmt. Der erste Plasmaausläufer bildet sich noch im PK, stets in Richtung der geöffneten Keimpore (Abb. 1a und b). Dabei gelangt regelmäßig der Hauptanteil der Plastiden in den vorderen Zellabschnitt, eine Anordnung, die im PS. beibehalten wird. Die Teilung des generativen Kernes setzt sehr bald nach Eintritt der generativen Zelle in den PS ein. In ihrem Verlauf erfährt diese weiterhin eine Längsstreckung, ohne daß aber ein Zellwachstum stattfindet. Ein solches ist jedoch vor Keimungsbeginn des PK bei der generativen Zelle festzustellen, denn die Differenzen der Zellanschnittsgrößen von Stadium 6 zu 7 der letzten Veröffentlichung und von Stadium 6 zu a dieser Untersuchung (Tabelle 3) sind sehr gut gesichert. Offenbar als Reaktion darauf beginnt nun eine Organellvermehrung. Diejenige der Plastiden verläuft so rasch, daß sie schon abgeschlossen ist, ehe die generative Zelle das PK verläßt (Stadium 7 zu a: $p < 0{,}1\%$, a zu b: $p = 11{,}4\%$ für die Werte pro Flächeneinheit; Tabelle 2), während die Vermehrung der übrigen Organelle erst während der Mitose zu Ende geht (Stadium 7 zu a und a zu b: $p < 0{,}1\%$). Keine der Organell-

gruppen nimmt während der Teilung des generativen Kernes eine charakteristische Anordnung ein (Abb. 1), wie das z. B. für die Mitochondrien tierischer Zellen bekannt ist. Die generative Zelle hat vom

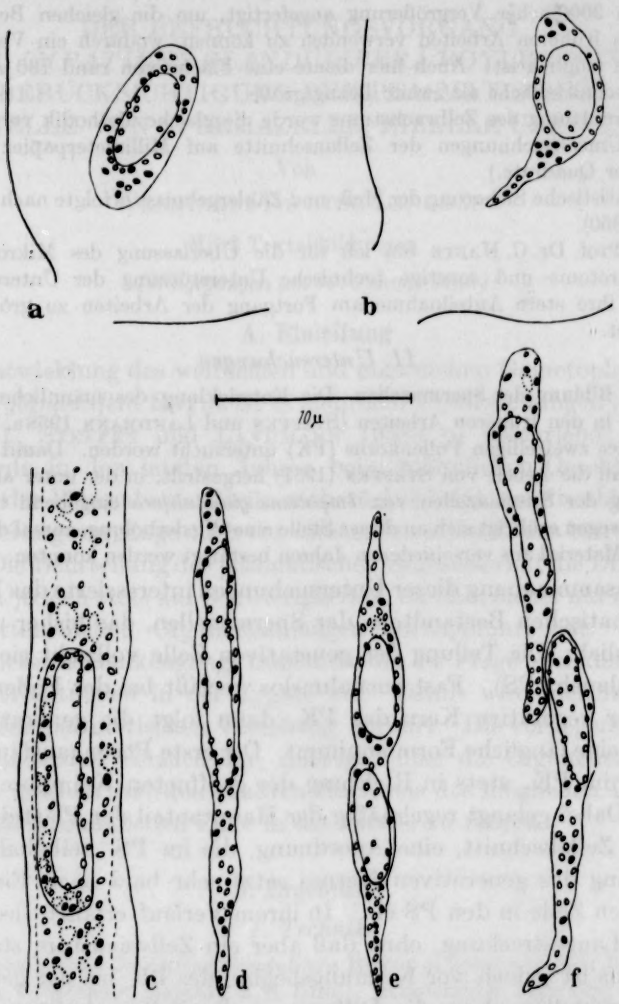


Abb. 1a—f. *Impatiens glandulifera* ROYLE. Entstehung der Spermazellen und das Verhalten der Proplastiden, Chondriosomen und Sphärosomen. Regaud-Fixierung, Säurefuchsinfärbung nach ALTMANN. a, b Generative Zelle bei Keimungsbeginn des Pollenkorns. (Letzteres nur teilweise mit der geöffneten Keimpore schematisch angedeutet.) c, d Generative Zelle im Pollenschlauch während der Kernteilung. e Kernteilung vollendet. f Zellteilung vollendet. — Plastiden schwarz, Vacuolen punktiert. Einzelheiten der Kernstruktur werden mit der angegebenen Färbung nicht erfaßt. — Näheres im Text

Zeitpunkt ihrer Entstehung, wo nur Zellanschnitte ausgewertet wurden, bis zu diesem Stadium die Zahl der plasmatischen Bestandteile mindestens verdoppelt und enthält jetzt rund 70 Organelle.

Tabelle 1. *Mittelwerte der Proplastiden- und Chondriosomen- + Sphärosomenzahlen pro Zelle bzw. Zellanschnitt*

Zellart und Stadium	Plastiden		p-Wert	Chondriosomen + Sphärosomen		p-Wert	Verhältnis Plastiden: Chondriosomen + Sphärosomen	Anzahl der Zählungen
	pro Zelle	pro Zellanschnitt	%	pro Zelle	pro Anschnitt	%		
Junge generative Zelle im Pollenkorn . .		$4 \pm 0{,}8$			$15 \pm 2{,}3$		1:3,75	20
a) Generative Zelle bei Keimungsbeginn des Pollenkorns	$13 \pm 0{,}6$		0,64	$26 \pm 0{,}9$		$< 0{,}1$	1:2,0	10
b) Generative Zelle im Pollenschlauch, in Teilung	$18 \pm 1{,}4$		62,3	$45 \pm 1{,}8$		35,0	1:2,5	10
c) Spermazelle vor Befruchtung	$17 \pm 1{,}1$			$48 \pm 2{,}5$			1:2,8	11
d) Spermazelle bei Befruchtung		$10 \pm 1{,}2$			$48 \pm 3{,}6$		1:4,8	4
e) Eizelle								
α) unbefruchtet		$34 \pm 8{,}9$	5,6		$188 \pm 22{,}0$	2,7	1:5,5	4
β) befruchtet		$55 \pm 5{,}3$			$278 \pm 27{,}7$		1:5,1	11

Tabelle 2. *Mittelwerte der Proplastiden- und Chondriosomen- + Sphärosomenzahlen pro Flächeneinheit*

Zellart und Stadium	Plastiden	p-Wert %)	Chondriosomen + Sphärosomen	p-Wert %	Verhältnis Plastiden: Chondriosomen + Sphärosomen	Anzahl der Zählungen
Junge generative Zelle im Pollenkorn	$15 \pm 1{,}5$	$< 0{,}1$	$57 \pm 5{,}2$	$< 0{,}1$	1:3,8	5
a) Generative Zelle bei Keimungsbeginn des Pollenkorns	$63 \pm 3{,}2$	11,4	$132 \pm 3{,}5$	$< 0{,}1$	1:2,1	2
b) Generative Zelle im Pollenschlauch, in Teilung . . .	$76 \pm 3{,}5$	13,0	$185 \pm 1{,}0$	33,0	1:2,4	2
c) Spermazelle vor Befruchtung	$68 \pm 1{,}5$	0,13	$196 \pm 9{,}3$	1,34	1:2,9	3
d) Spermazelle bei Befruchtung	26	1,8	118	$< 0{,}1$	1:4,5	1
e) Eizelle						
α) unbefruchtet	$19 \pm 2{,}0$	3,9	$92 \pm 3{,}7$	0,15	1:4,8	6
β) befruchtet	$25 \pm 1{,}9$		$118 \pm 6{,}2$		1:4,7	20

Tabelle 3. *Zellanschnittgrößen in Quadratmillimeter bei 3000facher Vergrößerung*

Stadium und Zellart	Mittelwert der Zellfläche	p-Wert %	Anzahl der Messungen
Junge generative Zelle nach 1. Pollenkorn-Mitose	125 ± 8	$< 0{,}1$	13
a) Generative Zelle im keimenden Pollenkorn	$179 \pm 10{,}9$	12,6	10
b) Generative Zelle in Teilung	$211 \pm 17{,}6$	4,1	10
c) Spermazellen vor Befruchtung	$263 \pm 15{,}3$	$< 0{,}1$	11
d) Spermazellen während Befruchtung	$423 \pm 31{,}6$		4
e) Eizelle α) unbefruchtet	$2966 \pm 157{,}5$	13,2	4
β) befruchtet	$3453 \pm 259{,}1$		11

Nun erfolgt die Durchteilung des generativen Plasmas. Wie die Zählungen an jungen Spermazellen zeigen, besitzen diese die gleiche Anzahl von Organellen wie ihre Mutterzelle (b zu c: $p = 62{,}3\%$ bzw. 13,0%; Tabelle 1 und 2), d.h.: die Teilung der plasmatischen Bestandteile muß außerordentlich rasch erfolgen, so daß man keine Zwischenwerte erhält, was auch durch die geringe Streuung der Mittelwerte bestätigt wird. Damit einher geht eine ebenso rasche Zellvergrößerung; die Größe der Mutterzelle wird sogar etwas überschritten (Unterschied schwach gesichert, Tabelle 3). — Kurz vor oder während des Befruchtungsvorganges erfahren die Spermazellen eine weitere Vergrößerung, der aber keine Organellvermehrung mehr folgt. So erklärt sich der niedrigere Wert pro Flächeneinheit unter d (Tabelle 2), der bei den Plastiden eine gute, bei den Chondriosomen und Sphärosomen eine schwach gesicherte Differenz zum Wert des vorhergehenden Stadiums zeigt.

Diese Vorgänge nach der Plasmadurchteilung der generativen Zelle zeigen also, daß die Organellmenge der generativen Zelle etwa je zur Hälfte an die Spermazellen übergeht und dort sofort verdoppelt wird, denn es wird pro Spermazelle die Organellzahl der teilungsbereiten generativen Zelle wiederhergestellt (Tabelle 1).

Der geschilderte Entwicklungsvorgang spielt sich in etwa 24 Std ab; das ist die Zeitspanne, die der PS benötigt, um durch den Griffel zur Samenanlage und dort in den Embryosack zu gelangen.

2. Der Befruchtungsvorgang. Die entwicklungsgeschichtlichen Daten der Bildung des weiblichen Gametophyten sind ebenfalls der Untersuchung von STEFFEN (1951) zu entnehmen. Im Rahmen dieser Untersuchung wurden die Stadien herausgegriffen, die Aufschluß über das Plasmaverhalten der Spermazellen bei der Befruchtung versprachen. STEFFEN vermutet lediglich das Eindringen männlichen Plasmas in die Eizelle (EZ), und die beobachteten „wenigen Fälle" werden nicht

durch Abbildungen belegt. Es sei vorausgeschickt, daß alle sonstigen im untersuchten Entwicklungsteil erhaltenen Befunde sich mit denen von Steffen decken, soweit sie PS- und das Kernverhalten aller beteiligten Zellen betreffen.

Hat der PS die Mikropyle durchwachsen, dringt er in eine der beiden Synergiden ein und platzt. Dabei wird die Synergide zerstört: sie platzt ihrerseits und transportiert auf diese Weise die Spermazellen und den pyknotischen, degenerierenden vegetativen Kern in den Embryosack (ES) hinein. Daß ein PS in den ES eingedrungen ist, erkennt man zunächst an dem abgestorbenen Synergidenkern, der als länglicher, feulgenpositiver Komplex kräftig, aber homogen angefärbt ist im Gegensatz zu dem der intakten Schwesterzelle. [Die Synergidenkerne sind vermutlich polyploid. Die chromatischen Strukturen erinnern an die von Tschermak-Woess (1957 a—c) und Hasitschka-Jenschke (1957) für Synergiden und Antipoden beschriebenen Riesenchromosomen.]

In der Endosperm-Mutterzelle (End.-MZ.) erfolgt bei Eintreffen des PS. erst die Polkernverschmelzung.

Die beiden Spermazellen kommen nach dem Platzen der Synergide meist in den Raum zwischen EZ und End.-MZ zu liegen (Abb. 2a), seltener seitlich von der EZ (Abb. 2b). Sie besitzen jetzt wieder eine rundliche bis ovale Zellform. Eine solche wird von den Spermazellen auch angenommen, wenn der PS (in Kultur) platzt. Danach ist zu vermuten, daß die langgestreckte Form den Zellen im PS aufgezwungen wird, sei es durch die räumlichen Verhältnisse oder durch die Plasmaströmung.

Die Frage, wie der Weg zu der EZ und End.-MZ von den Spermazellen zurückgelegt wird, muß nach wie vor offenbleiben.

Es ist jedoch möglich, für *Impatiens* das Eindringen der Spermazellen in EZ und End.-MZ zu belegen. Zunächst fällt auf, daß die „prophasische" Struktur der Spermakerne (ohne Nucleolus) aufgegeben wird und die Kerne sich schwächer färben. Synchron mit der im vorigen Abschnitt erwähnten Zellvergrößerung vollzieht sich eine Kernvergrößerung. In deren Verlauf werden die Chromosomen offensichtlich so weit entspiralisiert, daß nur noch kleine, kugelige Chromozentren nachweisbar bleiben. Gleichzeitig erscheint der Nucleolus wieder. (Diese Struktur besitzt der Eikern ebenfalls. Vgl. Abb. 2a mit c, d_1, d_2, e.) Der Vorgang ist bis zu dem Moment, in dem die ♂ Kerne in Kontakt mit den ♀ gekommen sind, abgeschlossen („Reifungsprozeß" nach Steffen, dort auch Literatur über gleichlautende Ergebnisse).

Wie die Barriere der fremden Zellwände überwunden wird, bleibt unklar. Die Beobachtungen hierzu blieben ohne Ergebnis; sie lassen aber die Vermutung zu, daß die ♂ Zelle sich flach und möglichst breit an die zu befruchtende ♀ Zelle anlegt und allmählich in diese einsinkt. Die Veränderung der Zellform spricht dafür (vgl. Abb. 2c, d_1, d_2, e, f, g).

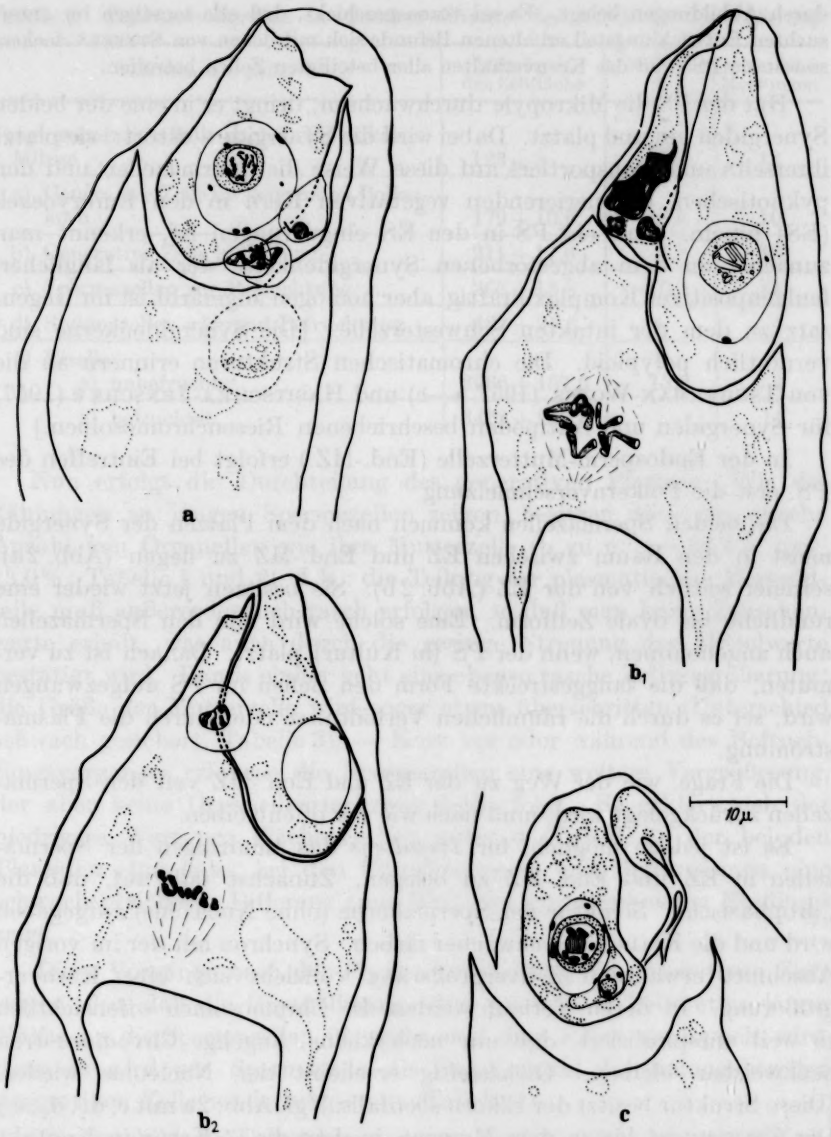
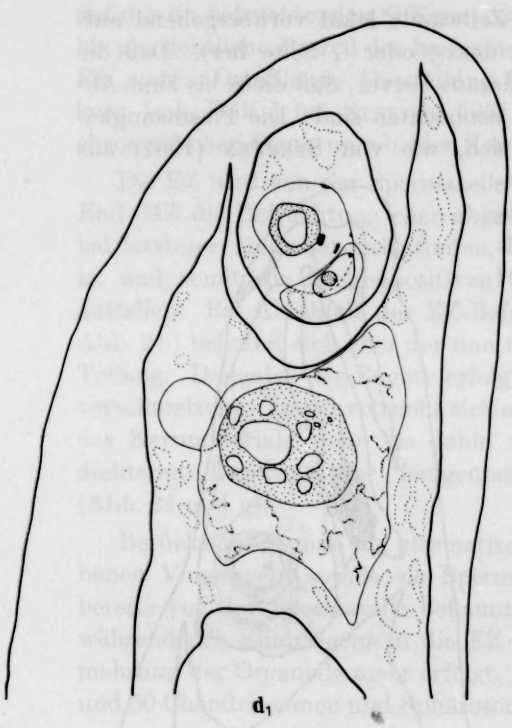
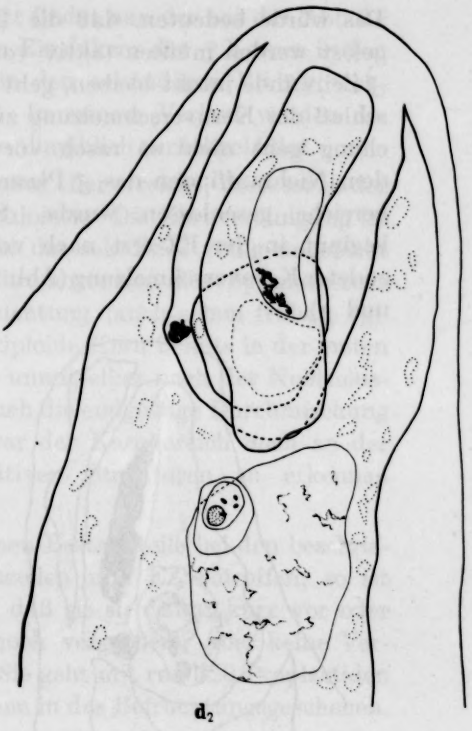


Abb. 2a—g. *Impatiens glandulifera* ROYLE. Der Befruchtungsvorgang. Nawashin-Fixierung, Färbung nach FEULGEN. — Längsschnitte durch die Samenanlage. a Neben der schräg angeschnittenen Eizelle der Anschnitt des frei im Embryosack liegenden Synergidenplasmas (mit dem degenerierenden vegetativen Kern); im Raum zwischen Eizelle und sekundärer Endosperm-Mutterzelle die beiden Spermazellen. — In der Endosperm-Mutterzelle oberer Polkern sichtbar. — Nucleoli der ♀ Kerne stark vacuolisiert, ♂ Kerne in prophasischer Struktur. b_1, b_2 Aufeinanderfolgende Schnitte: neben der Eizelle die zerstörte Synergide (mit eigenem und vegetativem Kern) nach der Entleerung in den Embryosack. Die Befruchtung des sek. ESK ist erfolgt, er befindet sich bereits in Teilung. Die zweite Spermazelle liegt an der Eizelle (Kernstruktur wie vor). c Die Spermazelle ist in die Eizelle eingedrungen und legt sich dem Eikern eng an. Chromosomenstruktur bis auf Chromozentren abgebaut, Nucleolus wieder vorhanden. — Rechts der Anschnitt der zerstörten Synergide





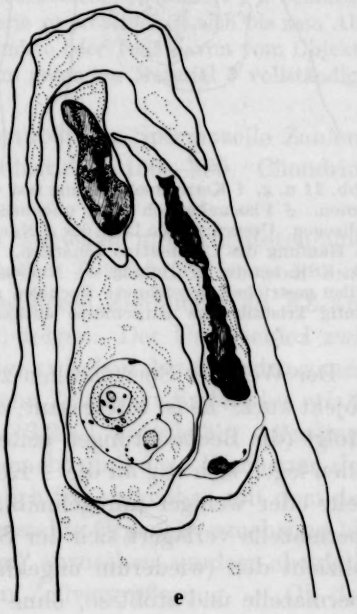


Abb. 2 d u. e. d_1, d_2 Aufeinanderfolgende Schnitte: Eine Spermazelle liegt innerhalb der Eizelle teilweise auf dem Eikern, die andere ist in die End.-MZ eingedrungen und liegt dem sek. ESK auf. — In d_2 Synergidenanschnitt über dem der Eizelle; vegetativer Kern im Raum zwischen Eizelle und End.-MZ. e Kernübertritt. ♀ und ♂ Kern sind erst teilweise miteinander verschmolzen; der ♂ Kern- (und Plasma-)Bereich ist noch deutlich abgegrenzt. — Neben der Eizelle der Anschnitt der zerstörten Synergide mit dem ausgetretenen Plasma; in diesem der vegetative Kern. Über dem EZ-Anschnitt der der intakten Synergide

Das würde bedeuten, daß die ♀ Zellwände lokal vorübergehend aufgelöst werden müßten (aktiv von der ♂ oder ♀ Seite her). Daß die ♂ Zellwände intakt bleiben, geht daraus hervor, daß diese bis zum Abschluß der Kernverschmelzung zu beobachten sind. Die Plasmaangleichung geht nicht so rasch vor sich, wie von STEFFEN (1951) aus dem Nichtauffinden des ♂ Plasmabereichs geschlossen wurde. Sie beginnt in der EZ erst nach vollendeter Kernverschmelzung (Abb. 2f und g).

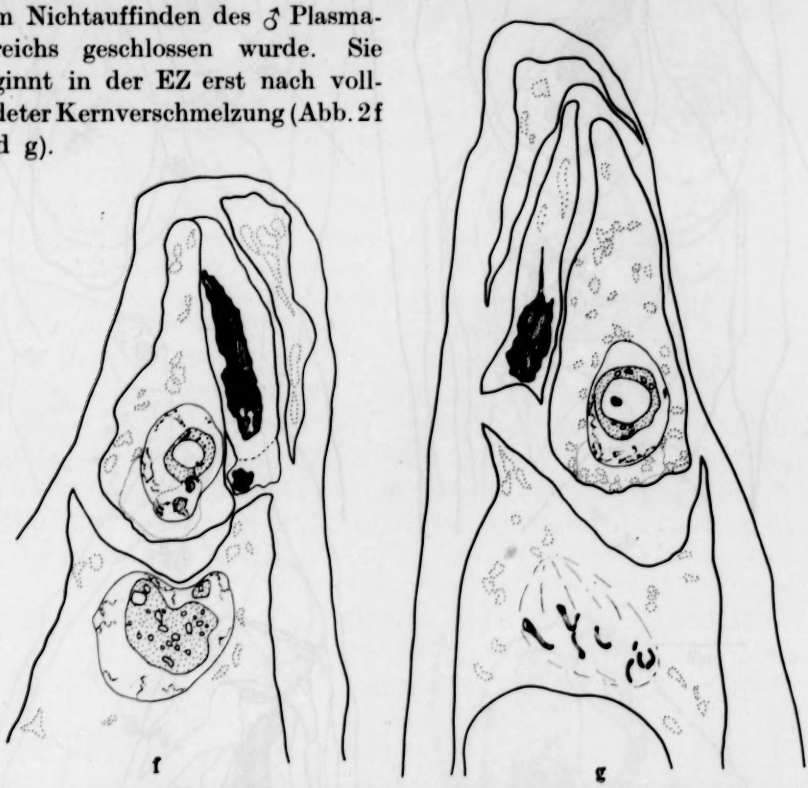


Abb. 2f u. g. f Kernverschmelzung fast vollendet. Beginnende Spiralisierung der Chromosomen. ♂ Plasmabereich wird undeutlich. g Kern- und Nucleolusverschmelzung sind vollzogen. Ursprüngliche Lage des ♂ Nucleolus an den SAT-Chromozentren, ♂ Kernbereich an Häufung des Chromatins kenntlich. ♂ Plasmabereich undeutlich. — Der befruchtete sek. ESK bereits in Teilung. — Nucleolusfläche punktiert. Tiefer liegende Kerne oder Zellen gestrichelt gezeichnet; Vacuolen punktiert (ausgenommen die der Nucleoli, diese häufig kristallartige Einschlüsse enthaltend). — Ausführliche Beschreibung im Text

Der Weg der Spermazellen zu den ♂ Kernen ist beim vorliegenden Objekt kurz. Es ist interessant, zu beobachten, wie die Kernübertragung erfolgt (die Beobachtungen gelten für EZ und End.-MZ): Die Spermazellen legen sich eng an die ♀ Kerne an, so daß (je nach Anschnitt) eine mehr oder weniger unregelmäßige Sichelform entsteht. Innerhalb der Spermazelle verlagert sich der Spermakern in Richtung des ♀ Kernes, vollzieht den (wiederum ungeklärten) Durchtritt durch die Wand der Spermazelle und stößt so, ohne ♀ Plasma berührt zu haben (!), direkt

auf den zu befruchtenden ♀ Kern. Dort findet nun der aus der Abb. 2e bis g ersichtliche Prozeß des langsamen Einsinkens des ♂ Kernes in den EK statt. (Detaillierte Darstellung für den sekundären Embryosackkern [sek. ESK.] bei Steffen 1951.) In seinem Verlauf werden die chromatischen Strukturen beider Kerne allmählich zurückgebildet.

Die EZ wird von der Spermazelle zwar eher erreicht, doch ist in der End.-MZ die Befruchtung eher abgeschlossen. Die Kernvereinigung ist bei letzterer einfacher aufzufinden, da der sek. ESK völlig ungefärbt ist und somit die feulgenpositiven Chromozentren des Spermakernes auffallen. Bei Abschluß der EZ-Befruchtung (auch schon früher, vgl. Abb. 2b) befindet sich aber der nun triploide Kern bereits in der ersten Teilung. Diejenige der Zygote erfolgt unmittelbar nach der Nucleolusverschmelzung. Dabei vollzieht sich auch die endgültige Durchmischung des Kernmaterials, denn bis dahin war der Kernbereich noch an der dichteren Lagerung der feulgenpositiven Strukturen zu erkennen (Abb. 2f und g).

Berücksichtigt man die plasmatischen Bestandteile bei den beschriebenen Vorgängen, soweit sie Spermazellen und EZ betreffen, so ist bereits von der Spermazelle bekannt, daß sie sich zwar kurz vor oder während des Eindringens in die EZ noch vergrößert, aber keine Vermehrung der Organelle mehr erfolgt. Sie geht mit rund 20 Proplastiden und 50 Chondriosomen und Sphärosomen in das Befruchtungsgeschehen.

Bei der Feststellung der Organellzahlen pro EZ stößt man naturgemäß auf technische Schwierigkeiten. Die angewandte Färbetechnik erfordert 1 μ-Schnitte. Es gelingt fast nie, eine vollständige Schnittserie zu erhalten, da sich bis zum Abschluß aller nötigen Manipulationen ganze Schnitte oder Teile davon vom Objektträger gelöst haben. Immerhin fanden sich im gesamten Material 3 vollständige und eine nahezu komplette EZ-Serie.

Für die ganze EZ. ergaben sich gegenüber der Spermazelle Zahlenwerte in folgenden Größenordnungen: Plastiden: 150—480, Chondriosomen und Sphärosomen: 1000—2500.

Hierbei wurden keine Unterschiede zwischen unbefruchteten und befruchteten EZ. (je 2 Serien) festgestellt. Tatsächlich ist aber eine Differenz vorhanden, wie die umfangreicheren Zählungen an EZ-Anschnitten pro Flächeneinheit (Tabelle 2) zeigen. Der Unterschied zwischenden Plastidenzahlen ist schwach, der zwischen den Chondriosomen und Sphärosomen gut gesichert. Zu diesem Zeitpunkt findet eine erfaßbare Zellvergrößerung nicht statt ($p = 13{,}2\%$; Tabelle 3). Allerdings wird von Steffen (1951) die Angabe gemacht, daß das „Wachstum der Eizelle bis zur Befruchtungsreife" erheblich ist, verglichen mit dem der anschließenden Stadien. So ist die festgestellte Organellvermehrung bis zur Befruchtung wohl nicht als „autonom" anzusehen, sondern ebenfalls als korreliert mit einer vorher erfolgten Zellvergrößerung. — Ob das

Hinzukommen der Spermazelle dieses Ergebnis ebenfalls beeinflußt hat, ist schwer zu beurteilen. Man könnte ja an eine Verdrängung der Organelle durch sie und eine entsprechend dichtere Lagerung dieser pro

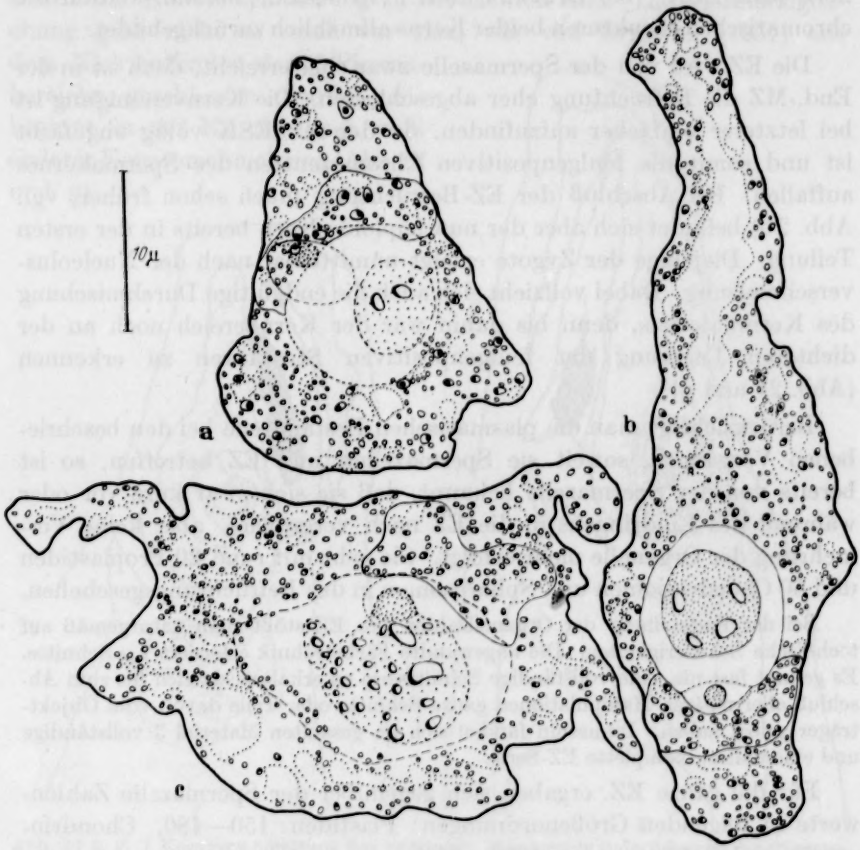


Abb. 3a—c. *Impatiens glandulifera* ROYLE. Nachweis des ♂ Plasmas in der Eizelle während der Befruchtung. — Regaud-Fixierung, Säurefuchsinfärbung nach ALTMANN. — Fig. a entspricht Fig. e, Fig. b der Fig. f der Abb. 2. c Befruchtung des sek. ESK. Kernverschmelzung ganz, Nucleolusverschmelzung nahezu abgeschlossen. Die Spermazelle liegt auch hier dem ♀ Kern eng an. — Zeichenerklärung s. Abb. 2; Proplastiden durch das Primärgranum erkennbar

Flächeneinheit denken. Die Zellflächen Spermazelle: EZ stehen in einem Verhältnis wie 1:8 (vgl. Tabelle 3). Nach Überlegungen am Modell ist eine statistisch zu sichernde Änderung der Werte nicht möglich.

Form und Größe der plasmatischen Bestandteile gehen aus Abb. 3 (Altmann-Färbung) hervor. Die Verhältnisse entsprechen denen in den früher untersuchten Geweben und Zellen, wenn man das degenerierende Antherentapetum ausschließt. Es wurde nirgends Stärke- oder Vacuolenbildung in den Plastiden beobachtet.

C. Diskussion

In der vorangegangenen Arbeit (Steffen und Landmann 1958b) wurden im Entwicklungsgang des ♂ Gametophyten von *Impatiens glandulifera* bereits 2 Phasen festgestellt, wo offenbar eine Organellvermehrung als Folge einer vorangegangenen Zellvergrößerung stattfand. Dies war der Fall im Antherenloculus bei den Pollenmutter- und Tapetumzellen nach ihrer Differenzierung und bei der vegetativen Zelle des PK vor und nach der 1. PK-Mitose. Diesem kann nun hinzugefügt werden, daß auch im weiteren Ablauf der Entwicklung bei der generativen Zelle und in den Spermazellen in Korrelation mit Plasmawachstum eine Vermehrung sämtlicher Plasmabestandteile erfolgt. Diese Fakten stehen nach wie vor in Übereinstimmung mit den Befunden von Fasse-Franziskет (1955) für Plastiden von *Agapanthus* und der Lettréschen Anschauung über die Kern-Plasma-Mitochondrien-Relation (Lettré und Lettré 1953), wo allerdings keine Aussagen über die zeitliche Differenz der korrelierten Vorgänge gemacht werden.

Die generativen Zellen und die Spermazellen stellen für solche Überlegungen insofern einen besonders günstigen Fall dar, weil sie durch ihre Übersichtlichkeit und leichte Zugänglichkeit (in Kultur) gestatten, im Gegensatz zu früher die Organellzahlen pro Zelle festzustellen (wenn man von den Schwierigkeiten infolge der Kleinheit der Organelle absieht). Im Vergleich zu Zählungen an Geweben hat man hier die Möglichkeit, eindeutig n- und $2n$-Zahlen des Plasmas zu ermitteln.

In einem Gewebe teilen sich die einzelnen Zellen nicht synchron, und man würde deshalb bei Zählungen (die technischen Probleme beiseite gelassen) einmal n-Werte (von gerade gebildeten Tochterzellen), zum anderen $2n$-Werte (von teilungsbereiten Mutterzellen), darüber hinaus aber auch Zwischenwerte (von Zellen zwischen 2 Teilungen) erfassen — bei der Voraussetzung, daß die Organellvermehrung normalerweise in der Interphase erfolgt. Der Mittelwert aus solchen Zählungen pro Gewebeart ist völlig undurchsichtig und für den Plasmongenetiker unbrauchbar[1].

Es bleibt jedoch dahingestellt, ob das beschriebene Verhalten der ♂ Zellen mit dem anderer verglichen werden darf; sie befinden sich ja innerhalb einer anderen Zelle. Eine Abweichung zeigt sich schon darin, daß die Vermehrung der Chondriosomen und Sphärosomen der generativen Zelle noch während der 2. PK-Mitose in Gang ist. — Andererseits gewinnen die Spermazellen durch ihre Beteiligung am Befruchtungsvorgang erhöhte Bedeutung für die Untersuchungen zur plasmatischen Vererbung.

[1] Auf diesen den meisten Zahlenangaben anhaftenden Mangel machte Herr Dr. P. Michaelis (Köln) aufmerksam.

Von einem Zusammenhang zwischen Zellwachstum und Organellvermehrung darf man wahrscheinlich auch bei der EZ sprechen, wenn auch in dieser Untersuchung eine Zellvergrößerung letzterer nicht festgestellt wurde, eine solche aber bei STEFFEN (1951) für die vorangegangenen Stadien beschrieben wird.

Im Zusammenhang mit der Frage nach der Organellverteilung in vegetativer und generativer Zelle vor und nach der 1. PK-Mitose wurde früher die Feststellung gemacht, daß die beiden Zellen sowohl darin, wie auch im Verhältnis Plastiden : Chondriosomen + Sphärosomen übereinstimmen.

Um den Anschluß an die neuen Ergebnisse zu erleichtern, seien die Quotienten Plastiden : Chondriosomen + Sphärosomen nochmals angegeben:

	Zellanschnitt	Flächeneinheit
Generative Zelle	1:3,19	1:3,15
Vegetative Zelle	1:3,57	1:3,54

Außerdem fanden sich entsprechende Zahlen für die sekundären Archesporzellen, die Ausgangszellen der gesamten Entwicklung: 1:3,38 bzw. 1:2,92.

Verfolgt man die Entwicklung unter diesem Gesichtspunkt weiter, so zeigt sich (vgl. Tabelle 1 und 2), daß zunächst der Quotient, der im Stadium 7 der früheren Arbeit (in Tabelle 1 und 2 aufgeführt) noch etwas angestiegen ist, durch die unterschiedliche Vermehrungsgeschwindigkeit der beiden Organellgruppen in der generativen Zelle verändert wird: er erhöht sich infolge rascherer Teilungstätigkeit der Plastiden auf 1:2,0 bzw. 1:2,1. Durch die letzte Zellvergrößerung der Spermazellen bei der Befruchtung sinkt der Verhältniswert wieder, und zwar auf den Endwert von 1:4,8 bzw. 1:4,5. Das ist bei Berücksichtigung möglicher Materialunterschiede eine auffällige Übereinstimmung mit den früheren Werten. Errechnet man dazu die entsprechenden Zahlen für die EZ, so ergeben sich ebenfalls vergleichbare Quotienten: unbefruchtet = 1:5,5 bzw. 1:4,8; befruchtet = 1:5,1 bzw. 1:4,7.

Diese Übereinstimmung der Verhältniswerte besagt:

1. Die sich bei der Befruchtung vereinigenden Plasmen sind hinsichtlich ihrer Organellverteilung einheitlich.

Es stimmen nicht nur die Quotienten überein, sondern auch die Zahlenwerte pro Flächeneinheit: die Differenzen $d:e^{\alpha}$ sind schwach und sehr gut gesichert, dagegen sind die Differenzen $d:e^{\beta}$ nicht signifikant, $p = 62{,}6\,\%$ bzw. $> 92\,\%$ (Tabelle 2).

Die Flächenwerte zeigen also ferner, daß die übereinstimmende Organellverteilung beider sich zur Befruchtung anschickenden Zellarten erst unmittelbar vor der Vereinigung zustande kommt. Auch die Spermazellen befinden sich zu dieser Zeit schon im ES. Für beide Zellarten könnte man darin einen einheitlichen Einfluß vermuten. Dieser Ansicht widersprechen jedoch die Verhältniswerte der übrigen in der Anthere befindlichen Zellen mit der gleichen Organellverteilung.

2. Aus den übereinstimmenden Verhältniszahlen geht ferner hervor, daß offenbar bei Impatiens stets nach „Fertigstellung" einer Zellart ein charakteristisches Verhältnis der plasmatischen Bestandteile hergestellt wird.

Ob dieses Verhältnis vielleicht spezifisch für die Pflanzenart, -gattung oder -familie ist oder sogar allgemein besteht und durch Teilungs- und Differenzierungsvorgänge vorübergehend bzw. dauernd verändert wird, müssen zukünftige Untersuchungen zeigen.

Bei der Auswertung der vollständigen EZ-Serien (Längsschnitte) wurde der Versuch unternommen, den radiären Gradienten, der grundsätzlich für jede Zelle (Bünning 1948) und für die Zygote „im verstärkten Maße" (Bartels 1956) zu fordern ist, nachzuweisen. Mit Hilfe des Verhältniswertes Plastiden:Chondriosomen + Sphärosomen pro Schnitt wäre ein Organellgefälle von der Zellwand bis ins Zentrum (Medianschnitte) gut zu veranschaulichen gewesen. Dieser Wert hätte sich je nach bevorzugter Lage der Plastiden (in Kernnähe oder an der Zellperipherie) bis zur Mediane erhöhen oder erniedrigen müssen, gleichgültig, von welcher Seite man anschneidet. Die 4 vorhandenen Schnittserien zeigten eine solche radiäre Polarität nicht. Entscheidende Lageveränderungen durch die Fixierung können mit Sicherheit ausgeschlossen werden (vgl. auch Abb. e_2 und f_2).

Die Organellzahlen pro ganze EZ (Plastiden: 150—480, Chondriosomen + Sphärosomen: 1000—2500) fügen sich den von Wildmann und Cohen (1955) angegebenen Näherungswerten für pflanzliche Zellen (Chloroplasten: 100, Mitochondrien + Sphärosomen: 700 + 300) gut ein, wenn man die sicher vorhandenen objekt-, umwelts- und genetisch bedingten Schwankungen berücksichtigt (vgl. auch Michaelis 1958).

Eine offene Frage bleibt, wie sich das ♂ Plasma angesichts der quantitativen Unterlegenheit gegenüber dem der EZ durchzusetzen vermag. Eine Klärung dieses Problems ließe sich eventuell mit „markierten" Organellen der Spermazelle erreichen. Stubbe (1957) gelang mit Hilfe mutierter ♂ Plastiden der Nachweis gemischter EZ bei *Oenothera*. Dabei trat die vom Vater übertragene Plastidensorte gegenüber den beiden mütterlichen zwar quantitativ zurück, war aber sicher nachzuweisen.

In Fortsetzung dieser Untersuchungen würde sich die Frage stellen, was mit dem ♂ Plasma in der EZ geschieht. Eine Durchmischung der Plasmen ist bei *Impatiens* bis zu Beginn der 1. Teilung der Zygote zweifellos nicht erfolgt. Eine Eliminierung wird nach den vorhandenen Beobachtungen in diesem Falle nicht angenommen. Die Durchmischung müßte also praktisch während der 1. Zygotenteilung bis zur Zellwandbildung erfolgen, was vorstellbar ist. Anderenfalls gelangte das ♂ Plasma, da es sich stets im unteren Teil der EZ befindet, in den Suspensor und nicht in den Embryo. Für *Impatiens* liegen keine Hinweise zur Klärung dieser Frage vor. Das Verhalten der beiden Plasmen innerhalb der

Zygote ist zur Klärung der Probleme der plasmatischen Vererbung von grundlegender Bedeutung. Kommt eine Vermischung bis zum Beginn oder während der 1. Zygotenteilung nicht mehr zustande, so können auch keine plasmatisch gemischten Embryonen auftreten. Ferner ist z. B. die Erklärung gescheckter Keimpflanzen durch *Ent*mischung erst möglich, wenn die *Ver*mischung väterlichen und mütterlichen Plasmas bei der Befruchtung nachgewiesen werden konnte.

Diese Untersuchung hat gezeigt, daß es mit der klassischen Schneide- und Färbetechnik in (unerläßlicher) Verbindung mit der Entwicklungsgeschichte möglich ist, die für die plasmatische Vererbung so entscheidende Frage nach der Übertragung ♂ Plasmas bei der Befruchtung und den Organellzahlen in der Zygote zu beantworten. Es wäre lohnend, diese Möglichkeiten auf die genetisch gut untersuchten Objekte, *Epilobium* und *Oenothera*, zu übertragen und dort die sich anschließenden Fragen, von denen an dieser Stelle nur einige aufgezeigt wurden, zu klären.

Zusammenfassung

1. Die Bildung der Spermazellen von *Impatiens glandulifera* ROYLE erfolgt nach der Pollenkeimung während des Pollenschlauchwachstums zur Samenanlage. Innerhalb des dafür nötigen Zeitraumes von etwa 24 Std wird die Zahl der Organelle vermutlich 2mal verdoppelt: zuerst in der heranwachsenden generativen Zelle bis zu deren Teilung (diese Angabe ist geschätzt, da für die junge generative Zelle keine Werte pro Zelle vorliegen), zum zweiten Male sofort nach der 2. Pollenkorn-Mitose in den wachsenden Spermazellen.

Es wird jeweils ein Endwert von rund 20 Plastiden und 50 Chondriosomen + Sphärosomen erreicht.

Die Vermehrung der plasmatischen Bestandteile wird als Reaktion auf das Zellwachstum angesehen.

2. Die Organellzahlen der Eizelle und der Zygote von *Impatiens* liegen im Bereich von 150—480 Plastiden und 1000—2500 Chondriosomen + Sphärosomen.

Eine Organellvermehrung in der Eizelle bis zur Befruchtung kann vermutlich auch hier auf vorangegangenes Zellwachstum zurückgeführt werden.

3. Es wird der Nachweis des Übertritts der gesamten ♂ Zelle in die Eizelle geführt und durch Abbildungen belegt. Der Befruchtungsvorgang wird beschrieben. Beide Plasmen besitzen bei der Befruchtung eine einheitliche Organellverteilung. Es ist auffällig, daß das Verhältnis der Organellgruppen beider Zellarten den gleichen Wert hat, wie er früher für die generative und vegetative Zelle und die sekundären Archesporzellen in der Anthere festgestellt wurde. Er liegt immer — bezogen auf die Plastiden — bei 1:4.

Literatur

Bartels, F.: Abnorme Epidermisausbildung bei einer Plasmonabänderung von *Epilobium hirsutum* als Beitrag zum Determinationsproblem. Ber. dtsch. bot. Ges. **69**, 375—380 (1956). — Bünning, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1948. — Fasse-Franzisket, V.: Die Teilung der Proplastiden und Chloroplasten bei *Agapanthus umbellatus* L'Herit. Protoplasma (Wien) **45**, 194—227 (1955). — Hasitschka-Jenschke, G.: Die Entwicklung der Samenanlage von *Allium ursinum* mit besonderer Berücksichtigung der endopolyploiden Kerne in Synergiden und Antipoden. Öst. bot. Z. **104**, 1—24 (1957). — Kuckuck, H., u. A. Mudra: Lehrbuch der allgemeinen Pflanzenzüchtung. Stuttgart: S. Hirzel 1950. — Lettré, H., u. R. Lettré: Kern-Plasma-Mitochondrien-Relation als Zellcharakteristikum. Naturwiss. **40**, 203 (1953). — Michaelis, P.: Untersuchungen zur Mutation plasmatischer Erbträger, besonders der Plastiden. I. Teil. Planta (Berl.) **51**, 600—634 (1958). — Steffen, K.: Mehrzelliges Archespor bei Balsaminaceen. Planta (Berl.) **36**, 203 (1948). — Zur Kenntnis des Befruchtungsvorganges bei *Impatiens glandulifera* Lindl. Cytologische Studien am Embryosack der Balsamineen. Planta (Berl.) **39**, 175—244 (1951). — Steffen, K., u. W. Landmann: Entwicklungsgeschichtliche und cytologische Untersuchungen am Balkentapetum von *Gentiana cruciata* L. und *Impatiens glandulifera* Royle. Planta (Berl.) **50**, 423—460 (1958a). — Chondriosomen-, Sphärosomen- und Proplastidenzahlen in Beziehung zu den Differenzierungsvorgängen bei der Antherenentwicklung. Planta (Berl.) **51**, 30—48 (1958b). — Stubbe, W.: Dreifarbenpanaschierung bei *Oenothera* I. Entmischung von drei in der Zygote vereinigten Plastidomen. Ber. dtsch. bot. Ges. **70**, 221—226 (1957). — Tschermak-Woess, E.: Notizen über die Riesenkerne und „Riesenchromosomen" in den Antipoden von *Aconitum*. Chromosoma (Berl.) **8**, 114—134 (1957a). — Über das regelmäßige Auftreten von „Riesenchromosomen" im Chalazalhaustorium von *Rhinanthus*. Chromosoma (Berl.) **8**, 523—544 (1957b). — Über Kernstrukturen in den endopolyploiden Antipoden von *Clivia miniata*. Chromosoma (Berl.) **8**, 637—649 (1957c). — Wildman, S. G., and M. Cohen: The chemistry of plant cytoplasm. In Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. I, S. 243—300. Berlin 1955. (Nach Michaelis 1958b.)

Dr. Waldtraud Richter-Landmann,
Institut für Entwicklungsphysiologie der Universität, Köln-Lindenthal,
Gyrhofstraße 17

Planta, 53, 178—197 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Freiburg i. Br.

VERSUCHE ZUR ANALYSE VON WACHSTUM UND DIFFERENZIERUNG DES LAUBMOOSPROTONEMAS

Von

MARTIN BOPP

Mit 11 Textabbildungen

(Eingegangen am 20. Januar 1959)

Einleitung

Bereits vor etwa 30 Jahren wurde durch Untersuchungen an Einsporkulturen festgestellt, daß jedem Laubmoos eine bestimmte und bestimmbare Protonemaform zukommt (OBERHEIDT, GAUSE, DENNIG, WOESLER). Erst in neuerer Zeit hat sich herausgestellt, daß eine gesetzmäßige Aufeinanderfolge mehrerer verschiedener Differenzierungsschritte erst zu der endgültigen Protonemaform führt, wenn diese Schritte auch nicht unbedingt obligatorisch zu sein brauchen und bei verschiedenen Moosen unterschiedlichen Charakter haben können (SIRONVAL 1947, BOPP 1954, KOFLER 1956, ALLSOPP und MITRA 1958 u.a.). Erst mit diesen Feststellungen wurde die Grundlage für eine experimentelle Analyse des Protonemawachstums geschaffen.

Tatsächlich sind die Faktoren, die für das Wachstum der Moosprotonemen verantwortlich sind, mit Ausnahme weniger Ansätze (HEITZ 1945, PRINGSHEIM 1935) bis jetzt noch durchaus unaufgeklärt. Einige Tatsachen sind ohne weiteres aus den früheren Beobachtungen zu erkennen, so etwa daß die einzelnen Teile eines Protonemas in bestimmter Lagebeziehung zueinander stehen, daß aus mehreren Sporen ein gemeinsames Protonema hervorgeht, und daß sich die äußeren Äste des Protonemas im allgemeinen radial nach allen Richtungen erstrecken. Aber bei den bisher dafür gegebenen Deutungen handelt es sich meist nur um eine anschauliche Beschreibung, mit der nicht viel gewonnen ist, genauso wie das eigentümliche spiralige Wachstum vieler Moosprotonemen (PRINGSHEIM 1935, KOFLER 1957, ALLSOPP und MITRA 1958) noch keineswegs eine befriedigende Erklärung gefunden hat.

Es soll darum versucht werden, an Hand einiger Experimente neue Gesichtspunkte zum Verständnis von Wachstum und Differenzierung der Moosprotonemen zu gewinnen. Dabei leistet die Chloronema-Caulonemakonzeption, wie sie SIRONVAL (1947) gegeben und wir sie mit geringen notwendigen Abwandlungen (vgl. VAN ANDEL 1952) übernommen und bereits mehrfach vertreten haben (BOPP 1954, 1957),

wertvolle Hilfe. Dabei sollen 3 Probleme in den Vordergrund gestellt werden:

1. Die gegenseitige Beeinflussung von Protonemen.
2. Der Einfluß des Lichts auf die radiale Ausbreitung des Protonemas.
3. Die Ursachen für das spiralige Wachstum.

Material und Methode

Wir verwendeten zu den Versuchen in erster Linie die bereits in früheren Untersuchungen benutzten und einige neue in der Umgebung von Freiburg gesammelten *Funaria*-Rassen. *Leptobryum piriforme*, *Barbula unguiculata*, *Splachnum luteum*, *Mnium spinosum*, *Fissidens bryoides*, *Bryum capillare* und *Pottia truncatula* stammen aus Kulturen des Freiburger Gewächshauses, bzw. wurden in der Umgebung gesammelt. Die Arbeitsmethoden entsprechen den bereits früher angegebenen. Als Ausgangsmaterial dienten immer Einsporkulturen. Soweit keine besonderen Angaben gemacht sind, wurde jeder Versuch in mindestens 5 Petrischalen mit jeweils 4 Protonemen 2mal wiederholt. Die unter konstanter Temperatur angezogenen Moose standen in Klimakammern bei 16 Std/Tag.

Zur Beleuchtung der Moose dienten folgende Einrichtungen:

1. Ein Lichtkasten zur Beleuchtung senkrecht von oben oder von unten. Dieser Kasten enthielt 4 Osram HNW 90-Leuchtstoffröhren. Die Petrischalen fanden in einem Abstand von 22 cm ober- und unterhalb der Lichtquelle Aufstellung. Eine 16 Std-Beleuchtung brachte innerhalb 4 Wochen eine vollständige Entwicklung der Moosprotonemen bis zur Knospenbildung zustande. Der Kasten war innen vollständig mit schwarzem Papier ausgekleidet.

2. Beleuchtung von der Seite. Diese erfolgte ebenfalls in einem schwarz ausgekleideten Kasten mit einer 200 Watt-Glühlampe. Die Petrischalen befanden sich auf einigen flachen Stufen in verschiedener Entfernung von der Lichtquelle. Diese Entfernungen sind bei der Beschreibung der Versuche angegeben.

3. Mit Spiegelscheiben ausgekleidete Lichtschränke, die in der Mitte mit 3 Leuchtstofflampen ausgerüstet waren, zur allseitigen Beleuchtung der Protonemen.

Alle Beleuchtungsanlagen standen in einem Raum, der auf 15° C konstant gehalten wurde und eine dauernde starke Luftumwälzung hatte. Auf diese Weise wurde eine Erwärmung, wie sie bei der geringen Entfernung zwischen Lampe und Objekt leicht eintreten könnte, vermieden.

Der in einigen Versuchen verwendete Klinostat besitzt einen Durchmesser von 12 cm bis zur Schalenmitte. Er wird durch einen Synchronmotor angetrieben und macht 2 Umdrehungen in der Minute.

Experimenteller Teil

1. Einige Bedingungen für die normale Protonemaentwicklung

Kultiviert man ein Einzelprotonema von *Funaria hygrometrica* bei diffusem oder schwach einseitigem Licht auf Agar mit einer entsprechenden Nährlösung, so entwickelt sich zunächst ein kreisscheibenförmiges Chloronema, das bei günstigen Verhältnissen nach etwa 14 Tagen in Caulonemaäste (Protonemarhizoide, Bopp 1952) übergeht, die sich ebenfalls radial nach allen Richtungen ausbreiten und die durch gleichmäßige Verzweigung, konstante Zellenlänge und schräge Querwände eindeutig gekennzeichnet sind. Ähnlich liegen die Verhältnisse bei einer großen Anzahl anderer Moose (Allsopp und Mitra 1956, 1958), wobei allerdings das Caulonema mehr oder weniger charakteristisch ausgebildet sein kann. Daneben gibt es noch andere Typen der Protonemaentwicklung, die aber in diesem Zusammenhang nicht von Interesse sind (z. B. Noguchi und Miyata 1958).

Durch Variation der Außenbedingungen kann nun die Caulonembildung künstlich unterbunden werden. *Funarien*, die bei einer Temperatur von $+5^0$ C kultiviert werden, sind nach 7monatiger Kultur zu dichten und ausgedehnten Rasen herangewachsen, die ausschließlich aus Chloronema bestehen, Caulonema tritt nicht auf. Dementsprechend finden sich auch keine Pflänzchen. Erst nach etwa 9 Monaten bilden die meisten Protonemen auch in 5^0 C allmählich Caulonema aus. Werden die Protonemen aber nach der Kultur bei 5^0 C einige Zeit (10, 20 Tage) in 20^0 C kultiviert und danach wieder in 5^0 C zurückgestellt, so entwickelt sich *sehr rasch* Caulonema, meist schon während der wärmeren Kultur, dieses wächst auch in der folgenden Kältebehandlung weiter und bildet Moospflänzchen aus.

Die normale Entwicklung zu typischen Caulonemen wird auch durch Unterwasserkultur in starkem Maße behindert (KOFLER 1956). Gleichzeitig ist dann auch die Knospenbildung stark herabgesetzt, wenn auch nicht ganz aufgehoben (MEYER 1942). Gegenüber den Kulturen auf festem Substrat ist das Auftreten der ersten Pflänzchen immer um einige Wochen verzögert.

Zusammenfassend geht aus diesen beiden Beispielen hervor, daß bei ungünstigen Außenfaktoren die inneren Bedingungen für die Caulonemadifferenzierung immer außerordentlich verzögert entstehen, während sich dies unter normalen Verhältnissen in wenigen Tagen vollzieht.

2. Die gegenseitige Beeinflussung mehrerer Protonemen

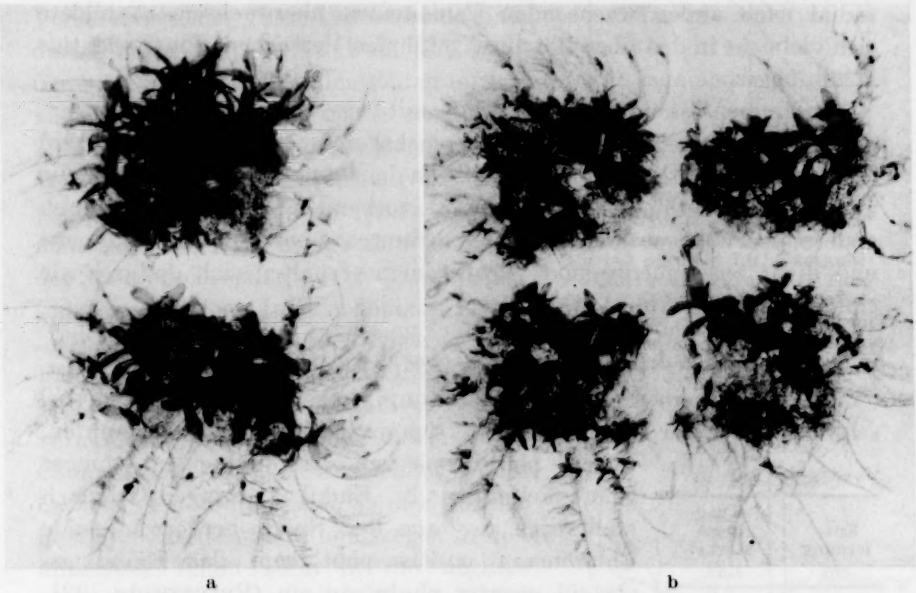
In früheren Untersuchungen haben wir festgestellt (BOPP 1952), daß sehr nahe nebeneinander wachsende Protonemen gemeinsame „Hexenringe" (die ersten angelegten Pflänzchen entstehen in einem Ring) bilden, da die Caulonemen, an denen die Knospen entstehen, nur nach außen angelegt werden. Dabei waren wir von nebeneinander geimpften Sporen ausgegangen. Deutlicher läßt sich die Ursache für diese gemeinsame Hexenringbildung aber aus folgenden Versuchen erkennen: Protonemen mit gerade beginnender Knospenbildung, die bei 20^0 C angezogen wurden, und Protonemen, die aus $+5^0$ C-Kulturen kamen und nur aus Chloronemen bestehen, werden in 3—5 mm Abstand auf frischem Agar ausgelegt (Methode: vgl. BOPP 1952).

Tabelle 1

Herkunft	Weiterkultiviert in	
	20^0 C	5^0 C
Beide Stücke aus 5^0 C . .	Hemmung (unregelmäßig)	keine Hemmung
Ein Stück aus 20^0 C . . .		sehr schwache bis
Ein Stück aus 5^0 C . . .	Hemmung (unregelmäßig)	keine Hemmung
Beide Stücke aus 20^0 C .	vollständige Hemmung	schwache Hemmung

Tabelle 1 zeigt die Ergebnisse bei Weiterkultur in 20^0 C und 5^0 C. Es geht daraus hervor, daß eine deutliche, gegenseitige Hemmung der

beiden Protonemen nur dann auftritt, wenn sie sich im „Caulonemastadium" befinden. Während rings um die ausgelegten Stücke neues Protonema angelegt wird, bleibt der Raum zwischen den Stückchen protonemafrei (Abb. 1a und b), unabhängig davon, in welcher Richtung zum Licht die Schalen aufgestellt sind. Alle neuentwickelten Teile besitzen hierbei Caulonemacharakter — wie auch Skeptiker wohl ohne Schwierigkeiten erkennen können! Keine Hemmung tritt auf, wenn



a b

Abb. 1a u. b. Gegenseitige Hemmung mehrerer Protonemastückchen. a Die neuangelegten Caulonemaäste erstrecken sich auf dem Agar nur nach außen. Der Raum zwischen 2 Protonemen bleibt völlig protonemafrei. b Der Raum zwischen 4 Protonemen ist ebenfalls völlig protonemafrei. Alle neuangelegten Caulonemen bilden eine gemeinsame Spirale

sich die ausgelegten Stücke im „Chloronemastadium" befinden und auch nur Chloronema neu gebildet wird (vgl. Bopp 1952, S. 126). Da die in Kälte herangezogenen Protonemen bei 20° C schon nach wenigen Tagen zur Caulonemabildung übergehen, zeigen sich unter diesen Versuchsbedingungen variable Ergebnisse, je nach dem, ob sich noch Chloronema entwickelt oder nicht.

Werden die nebeneinanderliegenden Protonemastücke durch Deckgläschen getrennt, so bleibt die Hemmung aus, die Caulonemen wachsen bis an die Deckgläser heran. Die in diesem Experiment erzielte Hemmung kann auch beobachtet werden, wenn in eine Petrischale z. B. 25 Einsporkulturen in regelmäßigen Abständen geimpft werden. In diesem Falle kommt es nie zu einem Zusammenwachsen der Protonemen (vgl. Gause bei *Dicranum*), obwohl ein einziges Einzelprotonema durchaus eine ganze Schale überwachsen kann. Da aber Sporen, die in einem Abstand von 4 mm und weniger geimpft werden, ein einziges Protonema

ohne gegenseitige Hemmung bilden (BOPP 1952), weist dies genau auf dieselbe Erscheinung wie in den vorher dargestellten Versuchen hin:

Protonemen üben von einem bestimmten Entwicklungsstadium (Reifegrad vgl. GORTON und EAKIN 1957) an eine Hemmung auf Caulonemabildung und -wachstum benachbarter Protonemen aus.

Diese Hemmung kann auch von einzelnen, isolierten Caulonemafäden ausgehen. Legt man solche Fäden in 1—2 mm Abstand von einem wachsenden Protonema aus, so werden sie nicht von dessen radial nach außen wachsenden Caulonemen überwachsen, es bildete sich vielmehr in den über 100 durchgeführten Versuchen eine eindeutige Hemmungszone aus.

Zusammenfassend können wir somit aus diesen Beobachtungen, deren Ergebnisse durch andere Versuchskombinationen gestützt sind (BOPP unveröffentlicht), folgern, daß von den Caulonemen eine Hemmung ausgeht, die verhindert, daß bereits vorhandene Protonemen durch andere überwachsen werden. Aus mehreren Sporen hervorgegangene und dicht zusammenliegende Protonemen verhalten sich dadurch wie ein einziges (vgl. Abb. 1 b).

3. Entwicklung der Funaria-Protonemen bei einseitiger Beleuchtung

Die kreisscheibenförmige Ausbreitung eines Protonemas auch bei schwach einseitiger Beleuchtung läßt sich nur schwer mit der bekannten, hohen phototropischen Empfindlichkeit junger Sporenkeimlinge in Einklang bringen; danach stellt sich das aus der Spore hervorwachsende Chloronema positiv phototrop, das Keimlingsrhizoid negativ phototrop ein (PRINGSHEIM 1921, HEITZ 1942, FITTING 1950, dort ausführliche Literatur). Wir untersuchten darum eine stark einseitige Lichteinwirkung auch auf die spätere Entwicklung des Protonemas.

Tabelle 2

Entfernung cm	Beleuchtungsstärke Lux
33	2950
43	1750
53	1150
63	830
73	640
84	460

Die Werte wurden gemessen bzw. nach der Formel

$$i_1 = i_2 \cdot \frac{a_2^2}{a_1^2}$$

errechnet. Gemessene und errechnete Werte stimmen sehr gut überein.

Die Protonemen wurden 7 bzw. 14 Tage bei diffusem Licht angezogen, wodurch kleine, scheibenförmige Räschen mit kleineren bzw. größeren Durchmessern entstanden. Diese Protonemen wurden dann im Lichtkasten in verschiedenen Entfernungen von der Lichtquelle aufgestellt. Die Entfernungen und die entsprechenden Belichtungsstärken sind in Tabelle 2 angegeben. Nach 6 Wochen hatten sich die Protonemen stark auf die Lichtquelle zu entwickelt und waren zu der in Abb. 2 aufgezeichneten Breite herangewachsen. Wir können daraus folgern: In den höheren Lichtintensitäten (3000 Lux) sind die nach 8 und 14 Tagen in den Lichtkasten

gebrachten Protonemen ungefähr gleich breit, sie haben sich also noch nachträglich und zwar in beiden Fällen gleich stark quer zur Lichtrichtung entwickelt. In den niederen Lichtintensitäten dagegen (< 1150 Lux) differieren die Breiten deutlich, die Protonemen haben sich nur in Richtung auf die Lichtquelle zu entwickelt, ihre Breite entspricht ungefähr dem Durchmesser der Rasen zur Zeit des Versuchsbeginns. Diese Unterschiede sind darauf zurückzuführen, daß die sich nach der Seite hin entwickelnden Fäden in den niederen Lichtintensitäten nicht entstehen.

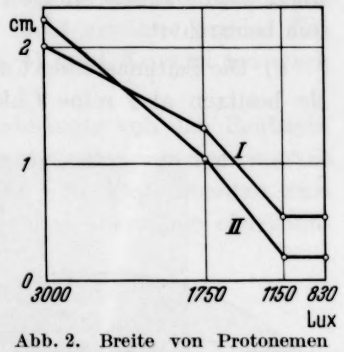


Abb. 2. Breite von Protonemen in Abhängigkeit von der Beleuchtungsstärke. Die Protonemen wurden bei diffusem Licht vorkultiviert und zwar *I* 14 Tage, *II* 7 Tage. Nur bei höheren Lichtintensitäten entwickeln sich die Protonemen in die Breite. Bei niederen wird die Breite vom Versuchsbeginn beibehalten

Die positiv phototrop wachsenden Teile des Protonemas sind nämlich unverzweigt, völlig grün, besitzen also *reinen* Chloronemacharakter; sie entsprechen den aus der Spore wachsenden positiv phototropen Chloronemafäden. In den höheren Lichtintensitäten erstrecken sich dagegen viele Fäden zunächst radial nach außen, diese sind immer durch regelmäßige Seitenverzweigung und konstante Zellänge als Caulonemen klar gekennzeichnet. Alle Caulonemen befinden sich immer auf der lichtabgewandten Seite und biegen in den äußersten Teilen stets in die negativ phototrope Richtung um. Das gesamte Wachstum läßt sich schematisch, wie in Abb. 3 darstellen. PRINGSHEIM (1935) stellte ähnliche Versuche an, dabei waren aber die Lichtintensitäten zu gering, um ein ausreichendes Wachstum zu bekommen.

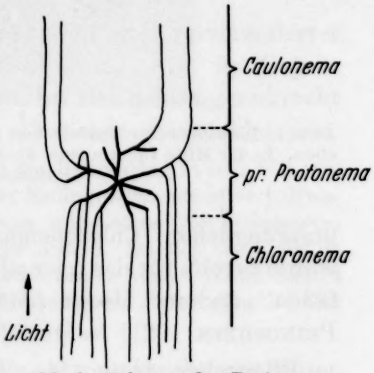


Abb. 3. Schema der Protonemaentwicklung bei einseitiger Beleuchtung (etwa 1700 Lux)

Die Versuche mit einseitiger Beleuchtung bewiesen ganz klar, daß der Unterschied zwischen Chloronema und Caulonema nicht nur morphologischer, sondern auch physiologischer Natur ist, was durch folgende Beobachtungen besonders erhellt wird:

a) Vereinzelt geht das positive Chloronema in Caulonema über, was an der damit beginnenden sehr regelmäßigen Seitenverzweigung zu erkennen ist. Mit der Veränderung des Zellcharakters geht ein Wechsel der Wachstumsrichtung mindestens bis zu einer Einstellung senkrecht zum Lichteinfall parallel. Die damit verbundene Krümmung kann nach links oder rechts erfolgen.

b) Mitunter verlieren auch Caulonemen ihre typischen Eigenschaften (regelmäßige Seitenäste, gleichmäßige Zellänge) und gehen dann wie die ursprünglichen Chloronemen in positiv phototropes Wachstum über. Beide Erscheinungen wurden in allen Lichtintensitäten gelegentlich beobachtet.

c) Die Seitenäste der Caulonemen wachsen streng positiv phototrop, sie besitzen also reine Chloronemaeigenschaft und wachsen mit dem

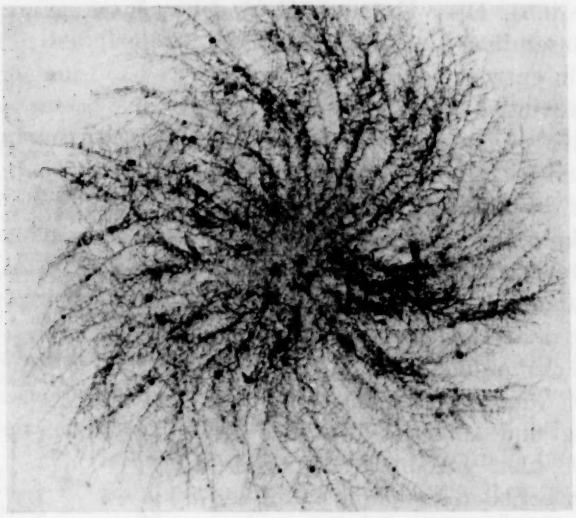


Abb. 4. Linksgedrehte Spirale von *Funaria hygrometrica* bei Beleuchtung senkrecht von oben. In der Mitte Chloronema, die Caulonemaäste sind spiralig gekrümmt. Die schwarzen Punkte an diesen sind Pflänzchen

ursprünglichen Chloronema (vgl. Schema) parallel, entsprechendes wurde bereits für das „aereal system" bzw. die „Seitenfäden der Hauptfäden" anderer Moose (ALLSOPP und MITRA 1958, WOESLER 1933, PRINGSHEIM 1921) festgestellt.

Pflänzchen traten in allen diesen Versuchen nur in den ersten zwei Helligkeitsstufen auf, sie befanden sich — mit Ausnahme einiger infizierten Protonemen (vgl. SIRONVAL 1947) — immer auf der lichtabgewandten Seite, d.h., stets an den Caulonemen.

Zusammenfassend lassen sich also Caulonemen und Chloronemen durch ihre Wachstumsrichtung bei stark einseitiger Beleuchtung deutlich unterscheiden: Chloronemen wachsen positiv, Caulonemen negativ phototrop. Der reizphysiologische Umschlag fällt mit dem morphologischen genau zusammen, was den Versuchen FITTINGS (1950) an Primärrhizoiden entspricht. Radiäre Protonemen können darum bei stark einseitiger Beleuchtung nicht entstehen.

4. Das spiralige Wachstum der Protonemen

KOFLER (1957) hat vor kurzem das spiralige Wachstum mancher Stämme von *Funaria hygrometrica* beschrieben und dabei auf die verwunderliche Tatsache hingewiesen, daß dieses Wachstum außer bei PRINGSHEIM (1935) bisher in der Literatur nicht erwähnt wurde. Ein spiraliges Wachstum der Protonemen (Abb. 4) fand KOFLER bei stark „diffusem" Licht.

Ich habe bereits vor einiger Zeit — unabhängig von den Beobachtungen KOFLERS — dem Spiralenwachstum von *Funaria hygrometrica* Beachtung geschenkt und dabei eine Reihe von Experimenten ausgeführt, die dazu dienen sollen, einen Aufschluß über diese eigentümliche Form des Wachstums, die auch von allgemeinem Interesse sein dürfte (vgl. PRINGSHEIM und LANGER 1924), zu gewinnen.

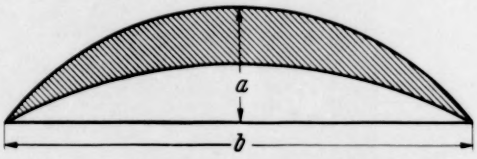


Abb. 5. Schema für den Krümmungskoeffizienten. Das Verhältnis a/b gibt das Maß für die Krümmung der Caulonemaäste. Die Mittelwerte aller Versuche liegen im schraffierten Raum, zwischen $a/b = 0{,}12$ und $0{,}25$

a) Abhängigkeit der Drehung vom senkrecht einfallenden Licht. Der zu den meisten Versuchen verwendete Stamm von *Funaria hygrometrica* zeigt bei Wachstum auf Knop-Agar und unveränderter Stellung zum Licht eine ausgeprägte Linksdrehung (d.h. im Gegenuhrzeigersinn, Abb. 4). Dieser Drehsinn bleibt bei Beleuchtung senkrecht von oben erhalten, kann aber mitunter schwächer ausgebildet sein.

Wie das Schema der Abb. 5 zeigt, schwankt die Krümmung (Verhältnis von a/b) der einzelnen Fäden auch unter verschiedenen Bedingungen nur in verhältnismäßig engen Grenzen. Alle Mittelwerte, die von mindestens 200 Protonemen gewonnen wurden, liegen im schraffierten Teil der Abb. 5. Da sich die Drehung im wesentlichen auf die Caulonemaäste beschränkt (wie es auch aus der Abb. 4 und 5 von KOFLER 1957 hervorgeht), ist eine Messung der Krümmung an den einzelnen Fäden ziemlich leicht und eindeutig möglich.

Werden die Protonemen statt von oben aber senkrecht von unten beleuchtet, so ändert sich der Drehsinn. Die Protonemen sind dann — vom Schalendeckel aus gesehen — rechtsdrehend (Abb. 6). Genau dasselbe Bild ergibt sich, wenn man umgekehrt stehende Petrischalen senkrecht von oben beleuchtet, während umgewendete von unten beleuchteten Schalen — immer vom Deckel her gesehen — normal links gekrümmt sind. Die Abb. 7 stellt diese Verhältnisse schematisch dar. Sehr anschaulich demonstriert dies auch ein Versuch, bei dem die Protonemen zunächst bis zur Ausbildung deutlicher Spiralen von oben und anschließend von unten beleuchtet wurden. Unmittelbar mit dem Wechsel der Beleuchtung wechselte dann auch die Krümmungs-

richtung. Unabhängig von der Angriffsrichtung der Schwerkraft bestimmt somit immer die Richtung des senkrecht zur Substratoberfläche einfallenden Lichtes den Drehsinn der Protonemen im Gegenuhrzeigersinn.

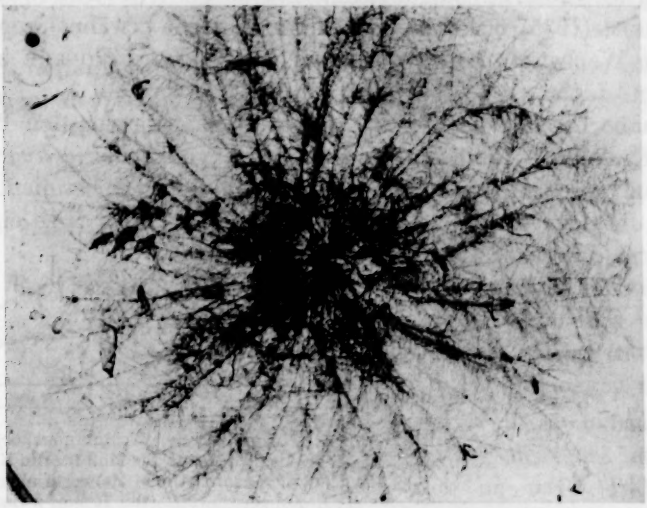


Abb. 6. Rechtsgedrehte Spirale von *Funaria hygrometrica*. Beleuchtung senkrecht von unten

Beeinflußt wird die Krümmung jedes einzelnen Fadens (vgl. S. 193); infolgedessen weisen alle Caulonemen ausgelegter Protonemastückchen (Abb. 1 b) eine gemeinsame Spirale auf.

b) Entwicklung bei Beleuchtung schräg von oben. Bei einer Beleuchtung schräg von oben, wie sie etwa bei der Aufstellung am Fenster

Abb. 7. Krümmungsrichtung der Caulonemen (in Pfeilrichtung) bei Lichteinfall senkrecht zur Substratoberfläche von oben (links) und von unten (rechts)

Tabelle 3

Behandlung	Krümmungskoeffizient
90° links gedreht .	0,19
90° rechts gedreht	0,18
Klinostat	0,14
Nordfenster . . .	0,21

gegeben ist, entstehen ebenfalls spiralisierte Protonemen. Diese Spiralisation ist aber nur dann regelmäßig, wenn die Petrischalen auf einem horizontalen Klinostaten stehen oder täglich um 90° gedreht werden. Da die Stärke der Krümmung unabhängig von der Richtung dieser Drehung ist (Tabelle 3) stellen diese Versuche einen weiteren Beweis für die Bedeutung des ausschließlich *senkrecht* einfallenden Lichtes auf die Krümmung dar.

Eine besonders auffallende Veränderung zeigen die Protonemen, wenn die Schalen bei schräger Beleuchtung umgekehrt aufgestellt sind. In diesem Falle bildet sich ein Wachstum aus, das man als gescheitelt bezeichnen kann. Die Caulonemen sind nach links und rechts gekrümmt und richten sich in ihrem weiteren Wachstum negativ phototropisch ein (Abbildung 9). Durch die Drehung der Schalen (auf dem Klinostaten oder täglich 90°) wird diese Wuchsform aufgehoben, die Caulonemen erstrecken sich dann radial nach außen ohne Spiralisation oder Scheitelung zu zeigen (Abb. 8). Der Agar schirmt also in diesem Falle so viel Licht ab, daß das Bild einer *vorwiegend* einseitigen Beleuchtung zustande kommt, bei der sich die Caulonemen negativ phototropisch einrichten, wie es auch bei stark einseitiger Beleuchtung (vgl. S. 183) der Fall ist.

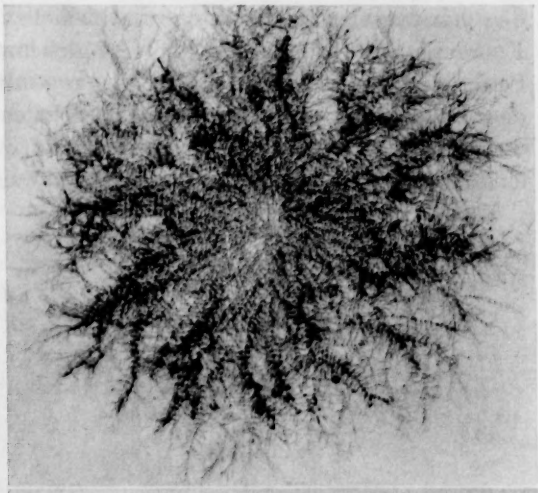


Abb. 8

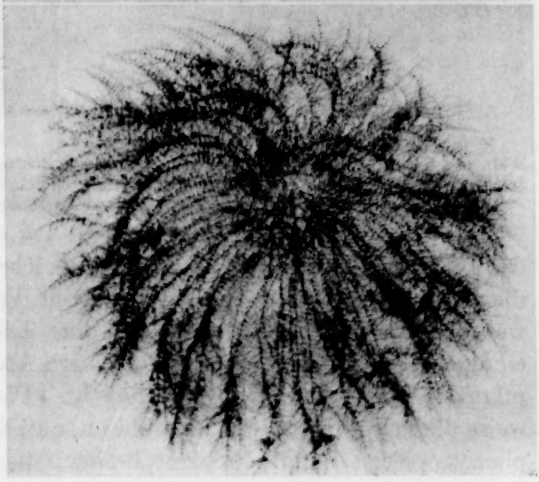


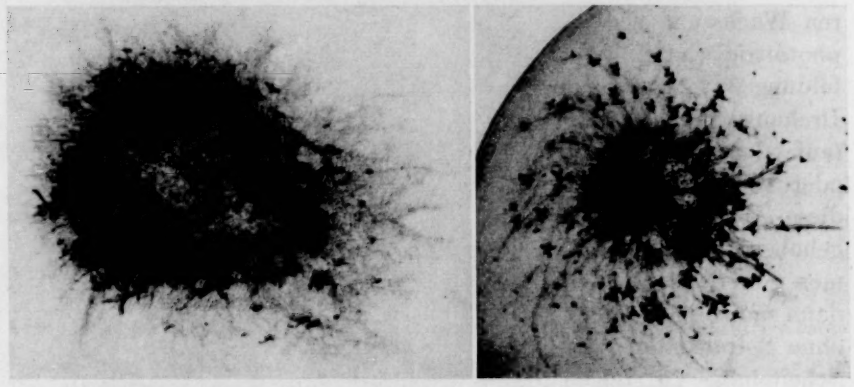
Abb. 9

Abb. 8. Protonema von *Funaria hygrometrica*, das mit dem Agar nach oben, am Fenster täglich 90° gedreht wurde. Statt eines spiraligen ist ein unregelmäßig radiäres Wachstum ausgebildet

Abb. 9. Gescheiteltes Wachstum eines *Funaria*protonemas bei Aufstellung am Fenster, Agar nach oben. Die Caulonemen wachsen negativ phototrop

c) Versuche mit 2 anderen Funariastämmen. Bereits in den Untersuchungen von Gersbach (1922) und Bergdolt (1931) traten nebeneinander Stämme von Bakterien und Pilzen mit und ohne spiraligem Wachstum auf. Ebenso beschreibt Kofler Stämme von *Funaria hygrometrica*, die auf verschiedene Bedingungen in bezug auf die Spiralisation unterschiedlich reagieren.

Zwei der von uns kultivierten Stämme verhalten sich ebenfalls abweichend. Bei der Aufstellung am Fenster trat keine Spiralisation, sondern gescheiteltes Wachstum auf. Wir brachten diese Stämme auf den horizontalen Klinostaten und beließen sie während der ganzen Entwicklung auf diesem, so daß eine gleichmäßige Belichtung von allen Seiten gegeben war. Durch Abschirmung mit schwarzem Papier konnte das Licht außerdem nur von der Schalenoberseite einfallen. Nach dieser Behandlung waren auch die Protonemen dieser beiden Stämme eindeutig linksspiralisiert. Die Veränderung ist auch an der Anlage



a b

Abb. 10a u. b. *Funaria hygrometrica* Stamm II. a Protonema am Fenster wächst gescheitelt. Pflänzchen sind nur auf der Rückseite entwickelt. b Auf dem Klinostaten. Die Protonemen sind deutlich spiralisiert, die Pflänzchen gleichmäßig ringsum verteilt

der Pflänzchen klar zu erkennen. Die gescheitelten Protonemen tragen die Pflänzchen vorwiegend an der vom Fenster abgewandten Seite, während die Protonemen, die auf dem Klinostaten gewachsen sind, eine ziemlich deutliche hexenringförmige Anordnung der jungen Moospflanzen aufweisen (Abb. 10a und b). Die abweichende Reaktionsweise dieser Stämme ist so zu erklären, daß die Caulonemen eine höhere phototropische Empfindlichkeit besitzen (vgl. FITTING 1950); infolgedessen genügt eine nur sehr wenig seitliche Belichtung — wie sie bei der Aufstellung am Fenster gegeben ist —, um die Caulonemen zum negativen phototropen und damit zum gescheitelten Wachstum anzuregen.

d) Beeinflussung der Protonemaform durch wechselnde Angriffsrichtung der Schwerkraft. Während die bisherigen Versuche ausschließlich auf die Wirkung des senkrecht einfallenden Lichtes hinweisen, zeigen die folgenden einen Einfluß der Schwerkraft auf die Spiralisation. Petrischalen wurden abwechselnd auf die Ober- bzw. Unterseite gestellt und zwar so, daß sie 1. 12 Std belichtet mit dem Deckel nach oben

und 12 Std verdunkelt mit dem Deckel nach unten standen, 2. Licht erhielten in der Zeit, in der sie mit dem Deckel nach unten standen und 3. alle 24 Std gedreht wurden, wobei sie wiederum genau 12 Std davon verdunkelt wurden. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 4 zusammengestellt. Sie entsprechen nur in der 3. Serie der Erwartung bei ausschließlicher Lichtwirkung. In diesem Falle kompensieren sich die beiden durch das Licht bedingten Krümmungsrichtungen, woraus das radiäre Wachstum resultiert. Das Ergebnis der beiden anderen Versuchsgruppen, nämlich ein in jedem Falle radiäres Wachstum, kann nur so gedeutet werden, daß bei einem dauernden Wechsel der Schwerkraft diese ebenfalls in die Ausrichtung der Caulonemen

Tabelle 4

	Licht auf dem Boden Dunkel auf dem Deckel	Licht auf dem Deckel Dunkel auf dem Boden	24 Std auf dem Deckel 24 Std auf dem Boden
Erwartung	deutliche Spiralisation	gescheitelt	radiäres Wachstum
Ergebnis	nur sehr selten Spiralisation, meist ± unregelmäßig ausgebreitet	nicht gescheitelt, nicht spiralisiert, ± unregelmäßig ausgebreitet	keine Spiralisation, radiäres Wachstum

eingreift, bzw. die für das spiralige Wachstum verantwortlichen Strukturen verändert, worauf in der Diskussion noch eingegangen wird (vgl. S. 194). Auch Versuche mit horizontaler Klinostatenachse brachten Ergebnisse, die auf einen Einfluß des Schwerereizes beim Protonemawachstum hinweisen. Wurden die Petrischalen an der Achse gedreht, so war nur in Ausnahmefällen eine schwache Spiralisation zu beobachten, meistens wuchsen die Caulonemafäden radiär. Die sich durch das Licht einrichtenden Faktoren, die das spiralige Wachstum zur Folge haben, können also auch hier nicht wirksam werden. Auffallenderweise zeigten aber auch die an der horizontalen Achse stillstehenden Kulturen keine Spiralisation sondern ein gescheiteltes Wachstum, wobei die Caulonemen auf der Substratoberfläche in Richtung der Schwerkraft wuchsen.

Aus diesen Versuchen geht weiterhin klar hervor, daß das Moosprotonema sich immer nur der Substratoberfläche entlang ausbreiten kann. Daher stellen sich nur bei senkrecht stehenden Petrischalen die Caulonemen nach der Schwerkraft ein, während sie sich bei vertikaler Oberfläche niemals in Richtung des Schwerereizes einstellen können. Auf Grund dieser Versuche ist es deshalb nicht mehr angebracht, die Ausbreitung der Moosprotonemen auf der Substratoberfläche als Diageotropismus oder Diaphototropismus zu bezeichnen (Sachs 1879, Czapek 1898, S. 265).

Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß nach unseren Experimenten für die Krümmungs*richtung* die Einfallsrichtung des Lichtes verantwortlich ist. Die Entstehung der Spiralen wird außerdem durch die Schwerkraft beeinflußt. Da die Protonemen immer auf der Substratoberfläche entlang wachsen, macht sich das besonders bemerkbar, wenn sich die Angriffsrichtung der Schwerkraft zur Substratoberfläche ändert.

5. Die Protonemen einiger anderer Laubmoosarten

Außer *Funaria hygrometrica* untersuchten wir noch folgende Arten: *Leptobryum piriforme, Barbula unguiculata, Splachnum luteum, Mnium spinosum, Fissidens bryoides, Bryum capillare* und *Pottia truncatula.*

Tabelle 5

Art	Caulonemen	Spirale
F. bryoides . .	bei älteren Protonemen deutlich	nach links gekrümmt (gescheitelt)
B. unguiculata .	deutlich	sehr ausgeprägt, meist linksdrehend
P. truncatula .	—	scharf gekrümmte Linksspirale
Sp. luteum . .	± deutlich	vereinzelt
L. piriforme . .	deutlich	selten und undeutlich (vgl. PRINGSHEIM 1935, ALLSOPP und MITRA 1958)
Br. capillare .	ähnliche Bildungen	gescheitelt, mit Andeutung von Spirale
Mn. spinosum .	ähnliche Bildung	schwach, meist links gedreht

Bei allen diesen Moosen geht aus der Spore ein ausgebreitetes kreisflächenförmiges Protonema hervor, bevor die ersten Pflänzchen angelegt werden. Es können natürlich nur solche Arten verglichen werden, die sich auf Agar bis zur Stämmchenbildung entwickeln. Tritt keine Stämmchenbildung ein, so kann das möglicherweise an einer Hemmung des Protonemas unter den gewählten Bedingungen liegen und die dabei auftretenden Protonemaformen sind rein pathologische Erscheinungsbilder (vgl. JANSEN 1913, NOGUCHI und MIYATA 1958 u.a.). Einige andere Arten (z.B. *Hypnum spec.*), die nur ein kleines Protonema bilden und deren Pflänzchen in der Mitte dieses Protonemas liegen, sollen ebenfalls außer Betracht bleiben. Bei den in der Tabelle zusammengestellten Ergebnissen handelt es sich immer nur um eine Rasse jeder Art, so daß bei anderem Versuchsmaterial durchaus abweichende Ergebnisse erzielt werden können, wie unsere Versuche an *Funaria* genügend beweisen (Tabelle 5).

ALLSOPP und MITRA (1958) fanden ein meist linksgedrehtes Spiralenwachstum außer bei *Funaria* noch bei *Pohlia* und *Leptobryum*, die beide

auch ein ausgeprägtes „prostrate system" besitzen, und GAUSE (1931) bildet ein Protonema von *Dicranum* ab, das sehr deutlich spiralisierte Hauptäste hat.

Man kann also zusammenfassen, daß das spiralige Wachstum bei Moosen in den verschiedensten Familien auftritt. Wie die Untersuchung verschiedener Rassen zeigt, ist es offenbar genetisch bedingt, wobei die Steuerung dieses Merkmals über eine unterschiedliche Reizempfindlichkeit laufen muß.

6. Einige Beobachtungen über den Wachstumsverlauf der Protonemen

Betrachtet man das Wachstum eines Protonemafadens im einzelnen, so ergeben sich folgende bemerkenswerte Gesichtspunkte: Durch Punktmarkierung mit kleinen Kohlepartikelchen auf der Spitzenzelle und zurückliegenden Teilen des Fadens konnte festgestellt werden, daß das Wachstum der Caulonemen auf die vorderste Zone von 4 μ der Spitzenzelle beschränkt ist. Der ausschließlich auf diese schmale Zone zurückzuführende Gesamtzuwachs beträgt durchschnittlich 50 μ/Std, wobei eine Zellänge von ungefähr 300 μ erreicht wird. Hinter dieser Wachstumszone liegende Fadenteile verändern sich an ihrer Oberfläche nicht mehr, da weder eine Längs- noch eine Querverlagerung der Markierungspunkte festzustellen ist.

Die Chloroplasten in der Spitzenzelle folgen in konstantem Abstand der wachsenden Spitze, ihre Bewegung zeigt ein unregelmäßiges Hin- und Herpendeln, das nicht auf eine schraubige Verlagerung des Zellinhaltes schließen läßt. Ebenso legen polarisationsoptische Bilder nahe, daß die Textur der Mizellen der Zellwand vorwiegend in der Längsrichtung der Zellwände orientiert ist, wobei diese auf keinen Fall nur in einer Richtung verlaufen können (vgl. GREEN und CHAPMAN). Dieses Fehlen von nachweisbaren spiraligen Strukturen in den Zellen selbst ergibt also keinerlei Anhaltspunkte, die als Grundlagen für die Spiralisation der Gesamtprotonemen dienen können. Dagegen ist es für das Verständnis der Protonemaform wichtig, daß keine nachträglichen Zellstreckungen, sondern ausschließlich das Spitzenwachstum der Fäden für diese verantwortlich ist.

Diskussion der Ergebnisse

Die Moose werden vielfach als Paradigma für entwicklungsphysiologische Gesetzmäßigkeiten bei höheren Pflanzen verwendet (z. B. BÜNNING 1953), da die Verhältnisse bei ihnen besonders einfach zu liegen scheinen. Es ist aus diesem Grunde aber unumgänglich notwendig, die Physiologie der verschiedenen Entwicklungsschritte auch tatsächlich in allen Einzelheiten zu kennen, da man sonst leicht zu falschen Folgerungen gelangt. Besonders die Kenntnisse über die Entwicklung der Laubmoosprotonemen sind noch durchaus unvollständig. Sie lassen sich aber nach den in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse in einigen wesentlichen Punkten ergänzen.

1. Die Reaktionsweise des Protonemas während der Entwicklung

Das Wachstum des Protonemas von *Funaria* und einer Anzahl anderer Moose ist gekennzeichnet durch die gesetzmäßige Aufeinanderfolge von Chloronema und Caulonema. Beide Formen unterscheiden sich nicht nur morphologisch (BOPP 1954), sondern sind auch physiologisch eindeutig zu trennen. Das Chloronema breitet sich bei diffuser oder schwach einseitiger Beleuchtung kreisscheibenförmig aus und reagiert bei stark einseitigem Lichteinfall positiv phototrop. Die Chloronemafäden reagieren auf einen Wechsel der Lichtrichtung mit einem scharfen Knick (PRINGSHEIM 1935, HEITZ 1942, BÜNNING und ETZOLD 1958). Bei weiterem Wachstum geht unter geeigneten Bedingungen, die die stofflichen Grundlagen für diesen Übergang schaffen können (vgl. ERNST 1958), das Chloronema allmählich in die Folgeform des Caulonemas über. Diese wächst bei diffusem Licht in bogiger Form, so daß das Gesamtprotonema ein spiraliges Aussehen erhält (KOFLER 1957). Bei einseitiger Beleuchtung reagieren die Caulonemen im Gegensatz zum Chloronema *negativ* phototrop. Es ist dabei für die Reaktionsweise charakteristisch, daß die Änderung der Wachstumsrichtung nie schlagartig erfolgt, sondern stets allmählich, was einen flachen Bogen zur Folge hat. Dieses reizphysiologisch unterschiedliche Verhalten der beiden Protonemaanteile bietet die Grundlage für das Erscheinungsbild des gesamten Protonemas (vgl. Abb. 4), nämlich ein dichtes deutlich radiäres Innenfeld aus Chloronema und ein je nach den Umweltbedingungen spiraliges oder gescheiteltes Außenfeld aus Caulonema.

Ein geschlossenes Protonema dieser Art entsteht immer, unabhängig davon, ob ihm mehrere oder nur eine Spore oder einzelne Protonemastückchen zugrunde liegen. Wir konnten zeigen, daß dies auf die Hemmung zurückzuführen ist, die von einem Caulonema ausgeht und das Wachstum sowie die Entwicklung anderer Caulonemen verhindert. Der hemmende Faktor entsteht erst dann, wenn die Protonemen „Caulonemareife" erreicht haben, d.h., wenn in ihnen das stoffliche Prinzip für die Caulonemabildung vorliegt (BOPP 1957). Diese Hemmung verhindert nun, daß vorhandenes Protonema von Caulonemen überwachsen wird und daraus folgt, daß Caulonema immer nur nach außen angelegt werden kann (vgl. BOPP 1952). Das typische Bild eines einzigen Protonemas kann also auch entstehen, wenn es sich um mehrere Einzelindividuen handelt. Diese Hemmung besitzt eine weitere wesentliche Bedeutung darin, daß sich mehrere Protonemen grundsätzlich nicht gegenseitig überwachsen können.

2. Die Ursache des spiraligen Wachstums

Einer besonderen Erörterung bedarf die Enstehung des spiraligen Wachstums. Erklärungsversuche, die für verschiedene Objekte mit

spiraligem Wachstum herangezogen wurden (PRINGSHEIM und LANGER 1924, BERGDOLT 1931, KOFLER 1957), können keine befriedigende Lösung erbringen, weil sie den wesentlichen Einfluß des Lichts und der Schwerkraft nicht berücksichtigen. Wegen dieser richtenden Faktoren kann die Spirale aber auch nicht einfach durch eine genetische Anlage „zur Linkstendenz" verursacht sein.

Wie im experimentellen Teil gezeigt wurde, ist das Wachstum des Fadens auf die vorderste Spitze beschränkt, so daß eine Krümmung nicht durch die nachträgliche Streckung einer Flanke zustande kommen kann. Vielmehr ist dafür allein die Wachstumsrichtung der Spitze

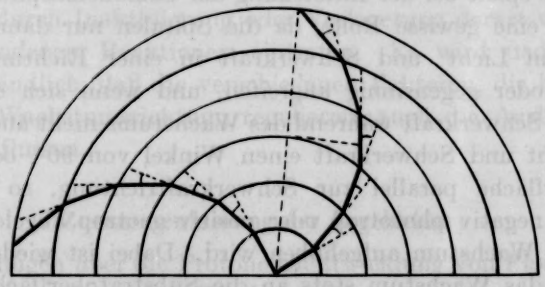


Abb. 11. Schema für die Spiralisierung von 2 Caulonemafäden durch gleichmäßige Ablenkung. In dem Schema beträgt diese auf 1 cm 20°. Dadurch kommt eine Gesamtkrümmung von a/b = 0,26 zustande. Das Protonema erhält auf diese Weise ein spiraliges Aussehen

unter den jeweils herrschenden Bedingungen verantwortlich. Sind diese Bedingungen genügend konstant, so wird jeder Faden in der Zeiteinheit stets um denselben Winkel nach links abgelenkt (Abb. 11). Dadurch kommt ohne weiteres das Bild einer gemeinsamen Spirale aller Caulonemen zustande. Da die Krümmung konstant bleibt, entfällt die Notwendigkeit eines „Gradienten" irgendwelcher Art (KOFLER 1957) von selbst.

Die auffallendste Erscheinung ist nun, daß die Krümmungsrichtung durch das senkrecht einfallende Licht bestimmt wird. Eine solche Krümmung, die also senkrecht zum richtenden Reiz erfolgt, ist aber nur dann möglich, wenn noch ein weiterer Faktor am Zustandekommen dieser Reaktion beteiligt ist (vgl. SNOW 1950, ZEYBEK 1957 u.a.). Diese könnte durch die Substratoberfläche, auf der sich die Caulonemen *völlig unabhängig* von Licht und Schwerkraft ausbreiten, gegeben sein. Wie das Entlangwachsen an der Substratoberfläche auf die Krümmung wirkt, ist allerdings schwer zu erklären, da ein schraubiges Wachstum der Fadenspitze, die notwendig wäre, um diesen Vorgang verständlich zu machen (vgl. PRINGSHEIM und LANGER 1924), nicht gefunden wurde und es außerdem gleichgültig ist, ob sich die Protonemen an der Ober- oder Unterseite des Substrats befinden.

Sehr wesentlich ist außerdem auch die Konsistenz des Substrats. So fand BERGDOLT (1931) bei einem Pilz (*Oidium*) eine zunehmend bessere Ausbildung des Spiralenwachstums mit steigender Festigkeit des Agars, und die Protonemen von *Funaria hygrometrica* besitzen auf Agar, der durch Hydrolyse weich gemacht wurde, eine völlig abweichende Protonemagestalt (ERNST 1958). Diese Feststellungen sind wohl so zu deuten, daß zur Ausbildung einer Spirale die Fäden ein festes Widerlager besitzen müssen. Damit auf einem solchen ein Faden in der entsprechenden Weise wächst, ist aber wiederum ein schraubiges Wachstum der Fadenspitze Voraussetzung.

Zweifellos spielt bei der Entstehung der Caulonemaspiralen auch die Schwerkraft eine gewisse Rolle, da die Spiralen nur dann regelmäßig werden, wenn Licht und Schwerkraft in einer Richtung und zwar gleichsinnig oder gegensinnig angreifen, und wenn sich die Angriffsrichtung der Schwerkraft während des Wachstums nicht ändert. Bilden dagegen Licht und Schwerkraft einen Winkel von 90°, oder liegt die Substratoberfläche parallel zur Schwerkraftrichtung, so werden die Caulonemen negativ phototrop oder positiv geotrop abgelenkt, so daß das spiralige Wachstum aufgehoben wird. Dabei ist wiederum zu beachten, daß das Wachstum stets an die Substratoberfläche gebunden ist, also auch nur Reaktionen in dieser Ebene möglich sind.

Die wahrscheinlichste Deutung für das Zustandekommen der Krümmung unter Berücksichtigung aller Befunde ergibt sich aus folgender Überlegung: BÜNNING und ETZOLD (1958) fanden, daß sich positiv phototropes Protonema senkrecht, negativ phototrope Rhizoide unter Umständen parallel zur Schwingungsrichtung des polarisierten Lichtes einstellen. Eine derartige Ausrichtung setzt doppelbrechende Strukturen voraus, deren Polarisationsebene *senkrecht zur Längsachse* der Zellen liegt, denn nur auf diese Weise erhalten positiv phototrope Zellen Licht bzw. negativ phototrope die notwendige Dunkelheit.

Tabelle 6 (nach KOFLER)

Mögliche Reaktion	Nährlösung mit $NH_4(NO_3)_2$	Nährlösung ohne $NH_4(NO_3)_2$
1.	Drehung nach rechts	Drehung nach links
2.	Drehung nach links (manchesmal nachträglich nach rechts)	Drehung nach links
3.	ohne deutliche Drehung	ohne deutliche Drehung

Die Strukturen quer zur Längsachse sind nun möglicherweise die Grundlagen für eine in wandnahen Plasmaschichten lokalisierte *Querpolarität*. Wenn in den Zellen eine Querpolarität vorliegt, so kann

daraus ohne weiteres resultieren, daß die Verlagerung der für das Wachstum verantwortlichen Faktoren (z.B. Wuchsstoff) stets auf ein und dieselbe Flanke der Fadenspitze erfolgt. Solche Strukturen ließen sich nicht direkt auffinden. Nachdem aber KOFLER durch Veränderung der Nährlösung (vgl. Tabelle 6) eine Änderung der Spiralisationsrichtung bei einzelnen Funariastämmen erzielen konnte, liegt der Gedanke nahe, daß diese Abänderung sich über die Ausbildung polarer plasmatischer Strukturen in Zellen, nämlich einer „dissymmétries dans les edifices moléculaires" (KOFLER 1957), auswirkt. Vermutlich wird über diese asymmetrischen oder querpolaren Strukturen, die Wuchsstoffaktivität (Wuchsstoffe sind im Protonema nachgewiesen, ERNST 1958) im Spitzenteil der Zelle durch Inaktivierung oder Verlagerung derart verschoben, daß die gefundenen Reaktionen eintreten. Es wird dadurch ohne weiteres verständlich, daß die verschiedenen Faktoren, die bei höheren Pflanzen die Wachstumsrichtung regulieren, auch die Ausbildung der Spiralen beeinflussen.

Zusammenfassung der Ergebnisse

Untersuchungen über die Protonemaentwicklung von *Funaria hygrometrica* führten zu folgenden Ergebnissen:

1. Durch die Kultur bei $+5^0$ C, bei Submerskultur und in sehr schwachem Licht wird die Caulonemabildung stark verzögert oder fast unterdrückt. An caulonemalosen Rasen entstehen keine Knospen.

2. Von einem bestimmten Entwicklungszustand an üben Protonemen eine gegenseitige Hemmung aus. Die Hemmung verhindert die Ausbildung und das Wachstum von Caulonemen.

3. Caulonema und Chloronema unterscheiden sich deutlich durch ihr phototropes Verhalten. Die Chloronemen sind positiv phototropisch, Caulonemen gehen allmählich in negativ phototropes Wachstum über.

4. Spiraliges Wachstum der Moosprotonemen ist bei den Laubmoosen weit verbreitet und kommt in unterschiedlicher Stärke und Ausbildung vor. Es wird durch das senkrecht zur Substratoberfläche einfallende Licht gesteuert. Bei den untersuchten *Funaria*-Stämmen erfolgt die Krümmung auf Knop-Agar immer vom Lichteinfall gesehen nach links.

5. Verschiedene Rassen von *Funaria* zeigen eine unterschiedliche Empfindlichkeit für photische Reize, wodurch unter gleichen Bedingungen entweder spiralige oder gescheitelte Protonemen entstehen.

6. Durch einen täglichen Wechsel der Angriffsrichtung der Schwerkraft geht das spiralige Wachstum in ein radiäres über. Greift die Schwerkraft parallel zur Richtung der Substratoberfläche an, so sind die Protonemen gescheitelt. Beides weist auf einen Einfluß der Schwerkraft auf die Wachstumsrichtung hin.

7. Das Wachstum der Protonemen ist ausschließlich auf die vordersten 4 μ der Spitzenzelle beschränkt, so daß eine Fadenkrümmung nicht durch einseitige stärkere Streckung zustande kommen kann.

8. Das spiralige Wachstum entsteht durch eine einseitige Verlagerung der Wachstumstendenz der Spitze jedes einzelnen Fadens. Welche Struktur für diese Verlagerung verantwortlich ist, ist noch nicht bekannt. Mögliche Mechanismen werden diskutiert.

Literatur

ALLSOPP, A., and G.C. MITRA: The heterotrichous habit in the protonema of the *Bryales*. Nature (Lond.) **178**, 1063—1064 (1956). — The morphology of protonema and bud formation in the *Bryales*. Ann. Botany **22**, 95—115 (1958). — ANDEL, O.M. VAN: Germination of the spores and development of primary and secondary protonema of *Funaria hygrometrica*. Trans. brit. bryol. Soc. **2**, 74—81 (1952). — BERGDOLT, E.: Über das Spiralwachstum von *Oidium lactis*. Arch. Mikrobiol. **2**, 591—600 (1931). — BOPP, M.: Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an Laubmoosprotonemen. Z. Bot. **40**, 119—152 (1952). — Ein Beitrag zur Differenzierung im Moosprotonema. Ber. dtsch. bot. Ges. **67**, 177—184 (1954). — Die Beziehung zwischen Protonemaalter und Knospenbildung bei Laubmoosen. Rev. bryol. et Lichen. **26**, 169—176 (1957). — BÜNNING, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanzen. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1953. — BÜNNING, E., u. H. ETZOLD: Über die Wirkung von polarisiertem Licht auf keimende Sporen von Pilzen, Moosen und Farnen. Ber. dtsch. bot. Ges. **71**, 304—306 (1958). — CZAPEK, F.: Weitere Beiträge zur geotropischen Reizbewegung. Jb. wiss. Bot. **32**, 173—308 (1898). — DENING, K.: Entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen an Gametophyten von *Buxbaumia aphylla* (L.). Verh. naturhist. Ver. Rheinl. u. Westfalen **85**, 305—345 (1929). — ERNST, M.: Entwicklungsphysiologische Untersuchungen an Mutanten von *Funaria hygrometrica*. Diss. Freiburg i. Br. 1958. — FITTING, H.: Über die Umkehrung der Polarität in den Sporenkeimlingen einiger Laubmoose. Planta (Berl.) **37**, 635—674 (1950). — GAUSE, E.: Die Entwicklung einiger Laubmoosvorkeime. Diss. Marburg 1931. — GERSBACH, A.: Zit. nach PRINGSHEIM und LANGER. — GORTON, B. G., and R. E. EAKIN: Development of the Gametophyte in the moss *Tortella caespitosa*. Bot. Gaz. **119**, 31—38 (1957). — GREEN, P.B., and G. B. CHAPMAN: On the development and structure of the cell wall in *Nitella*. Amer. J. Bot. **42**, 685—693 (1955). — HEITZ, E.: Die keimende *Funaria*spore als physiologisches Versuchsobjekt. Ber. dtsch. bot. Ges. **60**, 17—27 (1942). — Moosmutationen I. Spontane und durch Colchicin ausgelöste polyploide Mutanten bei *Aulacomnium androgynum* (L.). Arch. Klaus-Stift. Vererb.-Forsch. **20**, 120—125 (1945). — JANSEN, P.: Die Jugendformen der Laubmoose und ihre Kultur. Ber. westpr. bot.-zool. Ver. (Danzig) **35**, 1—62 (1913). — KOFLER, L.: Différentes formes de croissance et développement du protonéma de *Funaria hygrometrica* en culture in vitro. C. R. Acad. Sci. (Paris) **242**, 1755—1758 (1956). — Croissance spiralée du protonema de *Funaria hygrometrica* (L.). Sibth. C. R. Acad. Sci. (Paris) **245**, 1823—1825 (1957). — MEYER, S.L.: Physiological studies on mosses. III. The influence of the moisture factor on the formation of leafy moss plants. J. Tenn. Acad. Sci. **17**, 290—295 (1942). — NOGUCHI, A., and I. MIYATA: Sporelings and regenerats in some mosses. Kumamoto J. Sci., Ser. B Sect. II **3**, 1—19 (1957). — OBERHEIDT, K.: Die Entwicklung der Protonemata und die Anlage der Stämmchen bei einigen Laubmoosen. Diss. Marburg 1931. — PRINGSHEIM,

E. G.: Physiologische Studien an Moosen. I. Reinkultur von *Leptobryum piriforme*. Jb. wiss. Bot. **60**, 499—530 (1921). — PRINGSHEIM, E. G., u. J. LANGER: Zur Entwicklungsphysiologie der Kolonien des *Bacillus mycoides* FLÜGGE. Zbl. Bakt., II. Abt. **61**, 225—246 (1924). — PRINGSHEIM, E. G., u. O. PRINGSHEIM: Physiologische Studien an Moosen. III. Die Züchtung von Laubmoosprotonemen im Dunkeln. Jb. wiss. Bot. **82**, 311—332 (1936). — SACHS, I.: Über orthotrope und plagiotrope Pflanzenteile. Arb. bot. Inst. Würzburg **2**, 226—284 (1879). — SIRONVAL, C.: Expériences sur les stades de développement de la forme filamenteuse en culture de *Funaria hygrometrica* L. Bull. Soc. bot. Belg. **79**, 48—78 (1947). — SNOW, R.: Torsion and their analysis. New. Phytologist **41**, 1—12 (1942). — WOESLER, A.: Entwicklungsgeschichtliche und cytologische Untersuchungen an den Vorkeimen einiger Laubmoose, sowie einige Beobachtungen über die Entwicklung ihrer Stämmchen. Biol. Pflanze **21**, 59—116 (1933). — ZEYBEK, N.: Untersuchungen über den Mechanismus von artifiziell ausgelösten Wachstumstorsionen an *Helianthus annuus* Hypokotylen. Rev. Fac. Sci. Instanbul **22**, 1—44 (1957).

Dozent Dr. MARTIN BOPP,
Botanisches Institut der Universität, Freiburg i. Br., Schänzlestraße 9—11

Planta, 53, 198—211 (1959)

Aus dem Botanischen Institut der Universität Erlangen

DIE BLÜTENÖFFNUNG BEI *OENOTHERA* IN ABHÄNGIGKEIT VOM LICHT-DUNKELRHYTHMUS*

Von

CARL-GEROLD ARNOLD

Mit 14 Textabbildungen

(Eingegangen am 29. Januar 1959)

Einleitung

Die Gattung *Oenothera* ist seit Jahrzehnten ein wichtiges Untersuchungsobjekt der Vererbungsbiologie. Auch am hiesigen Institut werden seit langem umfangreiche genetische Untersuchungen mit *Oenothera*-Arten durchgeführt, die zu bedeutsamen Erkenntnissen geführt haben (Beiträge zur Plasma- und Plastidenvererbung, selektive Befruchtung usw.). Die ständige intensive Beschäftigung mit diesem Objekt lenkt die Aufmerksamkeit des „*Oenothera*-Spezialisten" auch auf Erscheinungen und Probleme, die zunächst außerhalb eines rein genetischen Interesses liegen. So wurde erst kürzlich die Physiologie der Keimung von *Oenothera*-Pollen eingehend untersucht (GLENK, noch unveröffentlicht). Andere Untersuchungen führten zum Nachweis eines antibiotischen Stoffes in Samen verschiedener Oenotheren (ARNOLD 1958). In der vorliegenden Arbeit soll nun ebenfalls über ein nichtgenetisches *Oenothera*-Problem berichtet werden, nämlich über die Ursachen der abendlichen Blütenentfaltung. Die Oenotheren sind bekanntlich Nachtblüher. Die Öffnung ihrer Blüten geschieht in den frühen Abendstunden, wobei jede Art eine charakteristische Aufblühzeit hat, die mit einer beachtenswerten Konstanz und Gleichförmigkeit eingehalten wird.

Erstaunlicherweise gibt es nur wenige wissenschaftliche Untersuchungen über die Ursachen dieser abendlichen Blütenentfaltung. Da einige Arbeiten aus den Jahren vor 1900 kritischen Anforderungen nicht genügen, stützen sich unsere heutigen Erkenntnisse praktisch allein auf die Veröffentlichungen von SIGMOND (1930 und 1931). Danach sind es 3 Außenfaktoren, die für den Aufblühvorgang notwendig sind: Wärme, eine gewisse Luftfeuchtigkeit und Licht-Dunkelwechsel, von denen die Wärme zweifellos der unmaßgeblichste Faktor ist. Zwar ist das Erreichen einer Mindesttemperaturgrenze für die Blütenentfaltung Voraussetzung (bei Kälte bleiben die Blüten geschlossen), aber sie steht in keinem Zusammenhang mit der Rhythmik des abendlichen Aufblühens.

* Herrn Prof. Dr. JULIUS SCHWEMMLE zum 65. Geburtstag.

Dagegen ist der tägliche Licht-Dunkelwechsel für die Öffnung der Blütenknospen offenbar von entscheidender Bedeutung. SIGMOND (1931) leitet diese Erkenntnis allerdings nur von einem einzigen Versuch her: Er entfernte 24 Std vor dem eigentlichen Aufblühtermin, also einen Abend vor der erwarteten Entfaltung die Blütenknospen von der Pflanze und setzte sie einer andauernden Dunkelheit aus. Die Entfaltung der so behandelten Blütenknospen begann später, verlief langsamer und blieb meist auf einem Anfangsstadium stehen. Der Öffnungsvorgang der Knospen wird also durch den Entzug des letzten Überganges Dunkel→Hell weitgehend gehemmt. Dagegen ist eine nur 5 Std vor dem Aufblühen einsetzende Verdunkelung nicht imstande, den Verlauf des normalen Entfaltungsvorganges zu beeinflussen.

Für das ungehinderte Aufblühen der Knospen ist am Tage des Aufblühens die Wirkung des Lichtes im Anschluß an die nächtliche Dunkelheit notwendig. Jedoch kommt nach SIGMOND (1931) das Licht als unmittelbarer Öffnungsreiz nicht in Frage. Er konnte feststellen, daß durch eine etwa 4—5 Std vor dem Aufblühen einsetzende Erhöhung der Luftfeuchtigkeit der Beginn der Entfaltung vorverlegt und ihr Ablauf beschleunigt wurde. SIGMOND nimmt nun an, daß der unmittelbare Anstoß zur Blütenöffnung durch das abendliche Anschwellen des Turgors gegeben wird, was eine Folge der um diese Tageszeit einsetzenden Luftfeuchtigkeitszunahme sowie der Schließung der Spaltöffnungen ist. Infolge des erhöhten Turgors entwickeln die inneren Blütenteile, vor allem die Blütenblätter, einen Druck auf die Kelchhülle, der schließlich den Kelchverschluß sprengt. In diesem Augenblick werden die ersten Anzeichen der Entfaltung sichtbar.

Bringt man die eben geschilderten Vorstellungen über die Ursachen der abendlichen Blütenöffnung bei *Oenothera* mit den Untersuchungsergebnissen an einem anderen Nachtblüher in Zusammenhang, so ergeben sich einige Bedenken. SCHMUCKER (1928) konnte durch Induktion eines inversen Lichtrhythmus die Blüten von *Cereus grandiflorus* dazu zwingen, die Anthese in den Morgenstunden zu beginnen. Die Blüten waren den ganzen Tag über geöffnet, um sich in den frühen Abendstunden wieder zu schließen. Nach SCHMUCKER beginnt das Aufblühen etwa 12 Std nach dem letzten Übergang Dunkel→Hell. Für die zeitliche Festlegung der Blütenentfaltung bei *Cereus grandiflorus* ist demnach das Licht der allein entscheidende Faktor. Gelänge es durch Darbietung eines inversen Lichtrhythmus unsere Oenotheren ebenfalls zum Blühen bei Tag zu veranlassen, so könnten wir die gleiche Feststellung auch für *Oenothera* treffen. Die abendliche Erhöhung der Luftfeuchtigkeit könnte dann aber nicht, wie SIGMOND es annimmt, der unmittelbare Anstoß zur Blütenöffnung sein. Es dürfte vielmehr der Zeitpunkt der für die Blütenentfaltung notwendigen Turgorerhöhung in erster Linie

vom Licht-Dunkelrhythmus abhängen. Dieselbe Auffassung wird wohl auch von BÜNNING (1953, S. 461) vertreten, wenn er schreibt: „Bei *Oenothera* ist das abendliche Anschwellen des Turgors und die dadurch bedingte Zunahme des Druckes auf den Kelch für das Öffnen der Blüte wichtig. Da wir aus dem Studium der tagesperiodischen Turgorbewegungen wissen, daß die Möglichkeit der Erreichung extremer Blattlagen (also extremer Turgorwerte) von der Rhythmik des Licht-Dunkelwechsels abhängt, bereitet die Erklärung der photoperiodischen Bedingtheit jener Blütenöffnungen wohl keine Schwierigkeiten."

Das Ziel der vorliegenden Untersuchungen bestand nun darin, unsere Vorstellungen über die Ursachen der abendlichen Blütenentfaltung bei *Oenothera* hinsichtlich der Lichtabhängigkeit zu beweisen. Des weiteren sollte ganz allgemein der Einfluß verschiedener Licht-Dunkelrhythmen auf den Zeitpunkt der Blütenöffnung geprüft werden.

Material und Methode

Die Untersuchungen wurden in den Jahren 1957 und 1958 mit *Oenothera Berteriana* und *Oenothera campylocalyx* durchgeführt. Da sich die Ergebnisse der Parallelversuche im Prinzip nicht unterscheiden, werden wir uns häufig auf die Wiedergabe der Resultate mit *Oenothera Berteriana* beschränken.

Die Anzucht der Pflanzen geschah zunächst nach der Methode von SCHWEMMLE (1938). Die Pflanzen wurden aber nicht auf dem Versuchsfeld ausgepflanzt, sondern einzeln in Töpfe umgesetzt. Die Töpfe sind im Freiland in die Erde eingesenkt worden. Dort verblieben sie bis die jeweiligen Pflanzen für die Versuche gebraucht wurden.

Die Versuche wurden in einem gut durchlüftbaren Institutsraum ausgeführt. Als Lichtquelle dienten Osram-Leuchtstoffröhren. Die Lichtintensität betrug in Höhe der Infloreszenzen etwa 5000 Lux. Während der Dunkelzeiten wurden die Pflanzen unter ein großes mit Verdunkelungspapier überzogenes Holzgerüst gestellt. Sollten nur einzelne Teile der Pflanze verdunkelt werden, so wurden über diese entsprechend große Hauben aus Verdunkelungsstoff gestülpt, die unten zum Schutz gegen reflektierendes Licht mit einem Zug versehen waren. Um Krümmungen der Triebe durch die relativ schweren Verdunkelungshauben zu vermeiden, wurden als Stützen entsprechend gebastelte Schweißdrahtgerüste verwendet.

Je Versuch wurden etwa 15—20 Pflanzen benutzt. Die Versuchsdauer betrug meist 1 Woche. Danach waren die Pflanzen vorläufig nicht mehr blühfähig. Die Kontrolle erfolgte in Intervallen von wenigen Stunden; im einzelnen mußte man sich an die jeweiligen Versuchsbedingungen anpassen. Zuweilen öffneten sich die Blüten nicht vollständig, sondern blieben auf einem Anfangsstadium der Entfaltung stehen. Das dürfte einmal auf die unnatürlichen Belichtungsverhältnisse der Versuchsbedingungen zurückzuführen sein, zum anderen aber auch auf die für die Pflanzen abnormen Umweltsverhältnisse des Institutsraumes. Es wurden nur solche Blüten als geöffnet registriert, bei denen die Kelchblätter einwandfrei zurückgeschlagen waren. (Eine ausführliche Beschreibung des Entfaltungsvorganges bei *Oenothera*-Blüten findet man bei SIGMOND, 1930).

Während der Versuchsdauer wurde laufend Temperatur und Luftfeuchtigkeit gemessen. Die Temperatur schwankte zwischen 18 und 21°C, die Luftfeuchtigkeit zwischen 60 und nicht ganz 80%. Es sind also niemals extreme Werte festgestellt worden, die den Versuchsverlauf hätten entscheidend beeinflussen können.

Versuche mit Dauerbelichtung

Die Pflanzen wurden im blühreifen Stadium vom Freiland in jenen Versuchsraum gebracht und einer Dauerbeleuchtung ausgesetzt. Der Versuchsbeginn wurde auf 12 Uhr mittags gelegt, so daß die Aufblühzeiten am ersten Abend auf jeden Fall noch normal sein mußten. Wie man aber aus der Abb. 1 ersehen kann, wird bei *Oe. campylocalyx* trotz unnatürlicher Dauerbelichtung auch in den nachfolgenden Tagen der normale Entfaltungsrhythmus beibehalten. Je länger jedoch der Versuch dauerte, um so weniger Blüten waren imstande sich voll zu öffnen. Viele blieben auf einem Anfangsstadium der Entfaltung stehen. Am 8. Tage des Versuchs gab es schließlich keine blühreifen Knospen mehr, die über dieses Anfangsstadium hinaus zur vollen Entfaltung kamen. Vom 11.—16. Tage standen den Versuchspflanzen keine aufblühbereiten Knospen zur Verfügung. Dies ist zweifellos eine Folge des plötzlichen Standortwechsels bei Versuchsbeginn. Jüngere Knospen sind gegenüber plötzlichen Veränderungen der Umweltsbedingungen äußerst empfindlich, sie stellen dann ihre weitere Entwicklung ein und fallen ab. Vom 17. Tage bis zum Versuchsende waren wieder einige blühreife Knospen vorhanden, die offenbar erst nach Beginn des Experiments, also im Dauerlicht, angelegt worden waren. Bis auf 2 Ausnahmen waren sie nicht in der Lage, sich normal zu entfalten. Sie blieben entweder völlig geschlossen oder erreichten nur das erste Stadium der Entfaltung. Von den beiden Ausnahmeblüten war die eine am 18. Tag um 17 Uhr, die andere am 20. Tag um 11 Uhr voll geöffnet. Die Öffnungszeiten dieser Blüten zeigten somit keine Beziehungen zum ursprünglichen Licht-Dunkel(d. h. Tag-Nacht)rhythmus im Freiland.

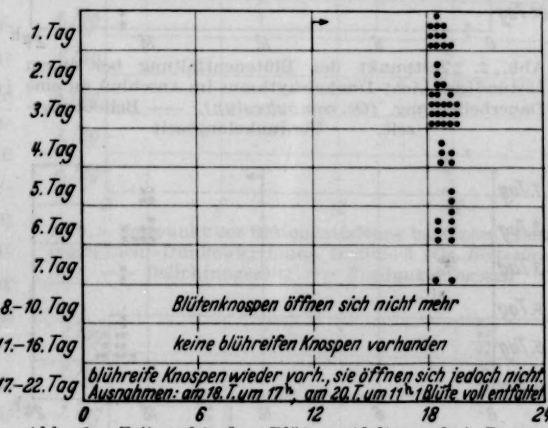


Abb. 1. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei Dauerbelichtung. ⌜ = Versuchsbeginn. *(Oe. campylocalyx.)* Zeichen ● bedeutet hier und bei allen anderen Abb. die Entfaltung einer Blüte

Am 18. Tage wurden 2 Versuchspflanzen von den übrigen getrennt und einem 12stündigen Licht-Dunkelrhythmus ausgesetzt, der ungefähr dem natürlichen Tag-Nachtwechsel entsprechen sollte. Noch am 20. Tage waren keine der aufblühbereiten Knospen in der Lage, sich normal zu entfalten. Aber einen Tag später konnten sich einige voll öffnen. Ihre Aufblühzeiten lagen in den frühen Abendstunden (s. Abb. 2), womit die

Abhängigkeit von den gebotenen Licht-Dunkelverhältnissen bekundet wurde. Damit war ferner erwiesen, daß die beobachtete Hemmung der Blütenentfaltung auch auf die Dauerbelichtung und nicht nur auf die ungünstigen Bedingungen im Versuchsraum zurückzuführen ist.

Auch mit *Oe. Berteriana* sind Dauerbelichtungsversuche durchgeführt worden, wenngleich sie wegen der grundsätzlichen Übereinstimmung nicht so lange ausgedehnt wurden. Es zeigte sich auch hier die Beibehaltung des abendlichen Entfaltungsrhythmus bis zum 6. Versuchstag (s. Abb. 3). Danach standen keine aufblühbereiten Knospen zur Verfügung.

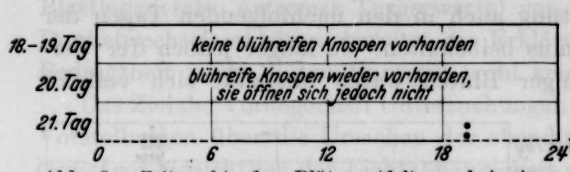


Abb. 2. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei einem 12stündigen Licht-Dunkelrhythmus im Anschluß an eine Dauerbelichtung. *(Oe. campylocalyx)*. —— Belichtungszeit, ---- Verdunkelungszeit

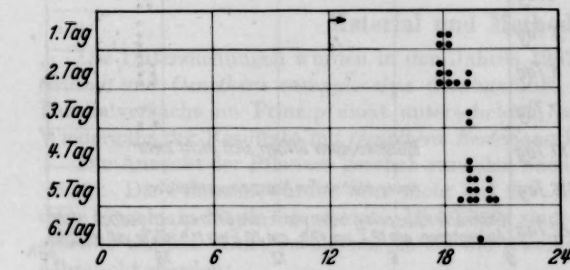


Abb. 3. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei Dauerbelichtung. ⌜ = Versuchsbeginn. *(Oe. Berteriana)*

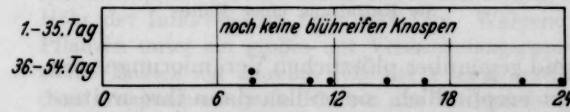


Abb. 4. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei Dauerbelichtung. Versuchspflanzen bereits ab Rosettenstadium im Dauerlicht. *(Oe. Berteriana)*

In einem anderen Versuch wurden 3 *Berteriana*-Pflanzen bereits im Rosettenstadium ins Dauerlicht gebracht. Wohl als Folge der wenig günstigen Bedingungen im Versuchsraum wurden nicht allzu viele Knospen angelegt. Soweit sie sich überhaupt öffneten (etwa zu 50%), zeigten sie hinsichtlich ihrer Entfaltungszeiten keinerlei Beziehungen zum natürlichen Licht-Dunkelrhythmus, dem die Pflanzen bis zum Rosettenstadium, also bis vor der Anlage der Blütenknospen ausgesetzt waren (s. Abb. 4).

Die Ergebnisse der Versuche mit Dauerbelichtung kann man folgendermaßen zusammenfassen: Der abendliche Entfaltungsrhythmus wird auch bei ununterbrochener Belichtung zunächst beibehalten. Mit zunehmender Versuchsdauer nimmt aber die Zahl der Blütenknospen, die sich nicht über ein Anfangsstadium hinaus voll entfalten können, zu. Knospen, die erst im Dauerlicht angelegt wurden, sind größtenteils ebenfalls nicht in der Lage, sich normal zu öffnen. Kommt es aber doch zur vollen Blütenentfaltung, dann sind die Aufblühzeiten wahllos über den ganzen Tag verteilt, sie stehen also in keinem Zusammenhang mit dem vor Versuchsbeginn gebotenen Licht-Dunkelrhythmus.

Vergleichen wir diese Ergebnisse mit dem Resultat des Dauerverdunkelungsversuchs von SIGMOND (1931), so zeigt sich, daß eine Dauerbelichtung für die Blütenöffnung viel weniger schädlich ist als eine andauernde Dunkelheit. Denn nach einer bereits 24stündigen Verdunkelung waren die meisten Blütenknospen nicht imstande, sich voll zu entfalten.

Versuche mit einem 12stündigen Licht-Dunkelrhythmus

In dieser Versuchsreihe wurden den Pflanzen abwechselnd 12 Std Licht und 12 Std Dunkelheit geboten. Die Gruppe A der Versuchspflanzen erhielt von 6—18 Uhr Licht, während sie von 18—6 Uhr verdunkelt wurde. Diese Versuchsanordnung sollte ungefähr den normalen Außenbedingungen entsprechen, allerdings war z. Z. des Experiments die Dunkelperiode im Freiland kürzer. Die andere Gruppe (B) von Pflanzen wurde während der natürlichen Nachtstunden, also von 18—6 Uhr belichtet und dafür am Tage von 6—18 Uhr verdunkelt. Mit Hilfe dieser inversen Licht-Dunkelperiodik sollte geprüft werden, ob man die Pflanzen veranlassen kann, tagsüber zu blühen. Im Falle eines Erfolges wäre damit bewiesen, daß der Aufblührhythmus in erster Linie vom Licht-Dunkelrhythmus abhängt.

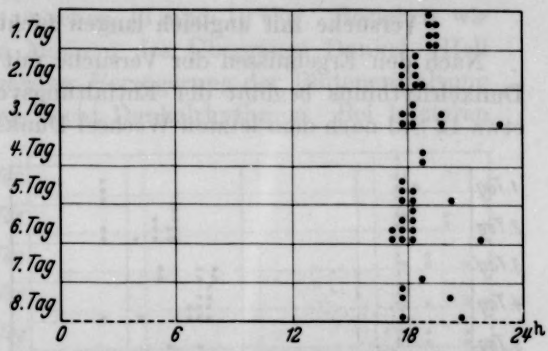


Abb. 5. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei einem 12stündigen Licht-Dunkelrhythmus. Gruppe A *(Oe. Berteriana)* —— Belichtungszeit, ---- Verdunkelungszeit

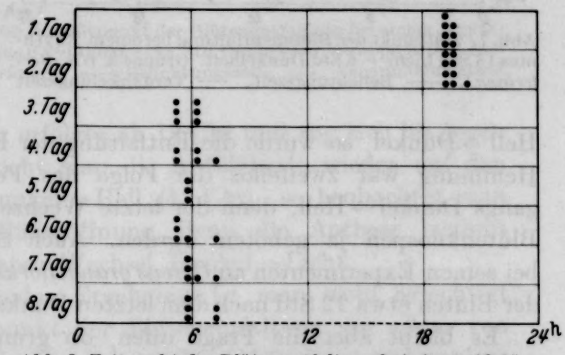


Abb. 6. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei einem 12stündigen Licht-Dunkelrhythmus. Gruppe B *(Oe. Berteriana)*. —— Belichtungszeit, ---- Verdunkelungszeit

Die Ergebnisse der Versuche waren eindeutig. Die Pflanzen der Gruppe A blühten regelmäßig, entsprechend des ihnen gebotenen natürlichen Licht-Dunkelwechsels in den frühen Abendstunden auf, sie verhielten sich also wie Freilandpflanzen (s. Abb. 5). Bei den Pflanzen der Gruppe B, die einem inversen Licht-Dunkelrhythmus ausgesetzt waren, begann die Anthese bereits am 3. Versuchstag in den Morgenstunden

(s. Abb. 6). Man kann also bei *Oenothera*, genau wie bei *Cereus grandiflorus*, durch Verdunkelung am Tage und Belichtung in der Nacht ein Blühen am Tage erreichen. Damit ist aber erwiesen, daß für die zeitliche Festlegung der Blütenentfaltung der Licht-Dunkelrhythmus der entscheidende Faktor ist.

Versuche mit ungleich langen Licht-Dunkelrhythmen

Nach den Ergebnissen der Versuche mit einem 12stündigen Licht-Dunkelrhythmus beginnt der Entfaltungsvorgang der Blütenknospen etwa 12 Std nach dem letzten Wechsel Dunkel→Hell, bzw. 24 Std nach dem letzten Übergang Hell→Dunkel. Die Resultate SIGMONDs (1931) sprechen dafür, daß für die Determination der Aufblühzeit vor allem der Wechsel Dunkel→Hell verantwortlich ist. Verdunkelte er die Blütenknospen 24 Std vor Beginn der Anthese, also zu einem Zeitpunkt des natürlichen Übergangs Hell→Dunkel, so wurde die Entfaltung der Knospen gehemmt. Diese Hemmung war zweifellos die Folge des Fehlens des letzten Übergangs Dunkel→Hell, denn der letzte Wechsel Hell→Dunkel war den Blütenknospen ja geboten worden. Auch SCHMUCKER (1928) stellte bei seinen Experimenten an *Cereus grandiflorus* fest, daß die Entfaltung der Blüten etwa 12 Std nach dem letzten Dunkel→Lichtwechsel beginnt.

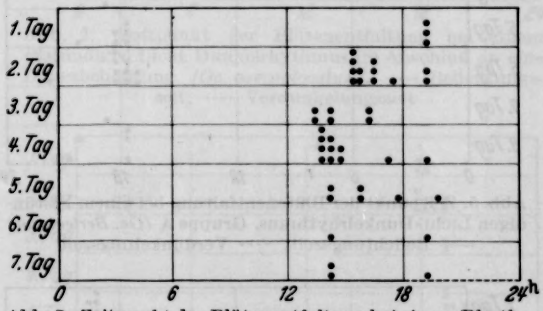


Abb. 7. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei einem Rhythmus 18 Std Licht — 6 Std Dunkelheit. Gruppe A *(Oe. Berteriana)*. —— Belichtungszeit, ---- Verdunkelungszeit

Es bleibt aber die Frage offen, ob grundsätzlich die Übergänge Dunkel→Licht den Zeitpunkt der Anthese bestimmen oder ob auch die Dauer der dazwischenliegenden Licht- und Dunkelperioden einen Einfluß hat. SIGMOND (1931) brachte Blütenknospen 5 Std vor dem zu erwartenden Einsetzen der Blütenöffnung in Dunkelheit. Den Blütenknospen war somit der letzte Dunkel→Lichtwechsel geboten worden, aber die Dauer der folgenden Lichtperiode wurde stark verkürzt. Diese Verkürzung konnte aber weder die normale Blütenentfaltung hemmen noch ihren Zeitpunkt irgendwie verschieben. Für die Beantwortung der obigen Frage reicht dieser einmalige Versuch aber nicht aus. Denn schon bei den Dauerlichtversuchen konnte gezeigt werden, wie lange ein einmal induzierter Rhythmus nachwirken kann.

Ausgehend vom normalen 12stündigen Licht-Dunkelrhythmus (6 bis 18 Uhr Licht, 18—6 Uhr Dunkelheit) verlängerten wir bei einer Gruppe

(A) von Versuchspflanzen die Belichtungszeit. Die Pflanzen erhielten von 0—18 Uhr Licht und nur von 18—24 Uhr Dunkelheit. Bei einer anderen Gruppe (B) wurde die Lichtperiode verkürzt, sie wurde von 12—18 Uhr belichtet und von 18—12 Uhr verdunkelt. Durch Verlängerung der Belichtungszeit von 12 auf 18 Std wurde die Aufblühzeit um einige Stunden vorverlegt (s. Abb. 7). Die Pflanzen der Gruppe A entfalteten ihre Blüten etwa zwischen 13 und 19 Uhr. Beziehen wir aber die Aufblühzeit auf den Moment des Übergangs Dunkel→Hell (24 Uhr), so ergibt sich eine gewisse Verzögerung der Blütenentfaltung im Vergleich zum 12stündigen Licht-Dunkelrhythmus. Bei letzteren beginnt die Anthese nach etwa 12 Std nach dem letzten Dunkel→Lichtwechsel, hier beginnt sie durchschnittlich nach 15 Std. Bei einer Verkürzung der Belichtungszeit von 12 auf 6 Std wurde der Zeitpunkt der Blütenentfaltung gegenüber dem Rhythmus 12 Std Licht — 12 Std Dunkelheit verzögert.

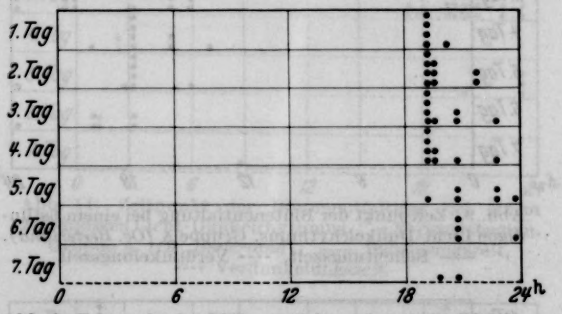


Abb. 8. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei einem Rhythmus 6 Std Licht — 18 Std Dunkelheit. Gruppe B *(Oe. Berteriana)*. —— Belichtungszeit, ---- Verdunkelungszeit

Die Entfaltung der Knospen erfolgte ab 19 Uhr und zog sich bis gegen 24 Uhr hin (s. Abb. 8). Bezieht man die Aufblühzeit wieder auf den Moment des Überganges Dunkel→Hell (12 Uhr), so beobachtet man eine Beschleunigung der Blütenöffnung, denn die Anthese beginnt bereits 7 Std nach dem letzten Wechsel Dunkel→Licht.

Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse ist man wohl berechtigt festzustellen, daß der Zeitpunkt der Blütenentfaltung vor allem von der Länge der gebotenen Licht-Dunkelperioden abhängig ist und weniger vom Moment des Überganges Dunkel→Licht. Eine Verkürzung der Dunkelzeit zugunsten der Lichtzeit bewirkt eine auffallende tageszeitliche Vorverlegung der Entfaltung, während sich die Verlängerung der Dunkelperiode mit einer Verzögerung bemerkbar macht.

Versuche mit einem 6- bzw. 24stündigen Licht-Dunkelrhythmus

Bei allen bisher geschilderten Experimenten mit verschiedenen Licht-Dunkelrhythmen ergab die Summe der nacheinander gebotenen Licht- und Dunkelzeiten immer 24 Std (Belichtungsstunden + Verdunkelungsstunden = 24 Std). Wir hielten uns also immer im Rahmen einer Tagesrhythmik. So konnten wir je nach Darbietung der Licht- und Dunkelperioden den Zeitpunkt der Blütenentfaltung verschieben, aber es blieb

dabei immer bei einem einmaligen Aufblühen innerhalb eines Tages. Das Ziel nachfolgender Untersuchungen bestand nun darin, festzustellen, ob durch Darbietung eines 6stündigen Licht-Dunkelcyclus die Pflanzen zu einem 2maligen Aufblühen pro Tag gezwungen werden können oder anders ausgedrückt, ob den Pflanzen bei einem 6stündigen Rhythmus 2 fest umrissene Aufblühtermine innerhalb 24 Std zur Verfügung stehen. Analog dazu sollte geprüft werden, ob bei einem 24stündigen Licht-Dunkelcyclus den Versuchspflanzen innerhalb 48 Std nur 1 Aufblühtermin zur Verfügung steht.

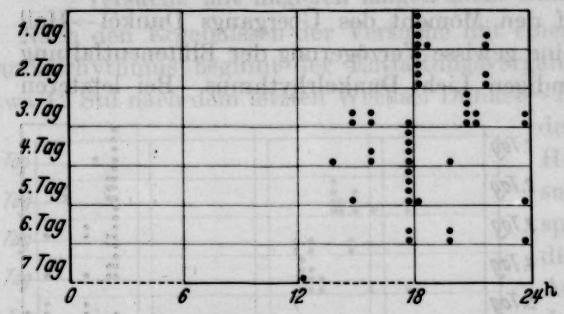


Abb. 9. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei einem 6stündigen Licht-Dunkelrhythmus. Gruppe A *(Oe. Berteriana)*. —— Belichtungszeit, ---- Verdunkelungszeit

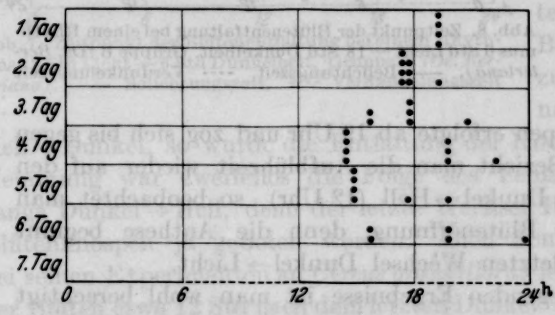


Abb. 10. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei einem 6stündigen Licht-Dunkelrhythmus. Gruppe B *(Oe. Berteriana)*. —— Belichtungszeit, ---- Verdunkelungszeit

Diejenigen Pflanzen, die einer 6stündigen Periodizität ausgesetzt werden sollten, wurden in 2 Gruppen eingeteilt. Die Gruppe A erhielt von 0—6 Uhr Dunkelheit, von 6—12 Uhr Licht, von 12—18 Uhr Dunkelheit und von 18—24 Uhr schließlich wieder Licht. Die Gruppe B erhielt dagegen von 0—6 Uhr Licht, von 6—12 Uhr Dunkelheit, von 12 bis 18 Uhr Licht und von 18—24 Uhr Dunkelheit. Die Ergebnisse beider Versuchsgruppen unterscheiden sich jedoch nicht voneinander (s. Abb. 9 und 10). In keinem Fall konnten innerhalb eines Tages 2 deutlich umrissene Aufblühtermine induziert werden. Andererseits blieb die 6stündige Periodizität nicht ohne Wirkung. Die Entfaltung der Blüten geschah nicht mehr einheitlich zu einer relativ konstanten Tageszeit, sondern sie vollzog sich nach und nach innerhalb vieler Stunden, und zwar vom frühen Nachmittag an bis Mitternacht. Die für die Anthese zur Verfügung stehende Zeitspanne hat sich also außerordentlich erweitert. Auch die Pflanzen, die einem 24stündigen Licht-Dunkelcyclus ausgesetzt waren, sind bei Versuchsbeginn in 2 Gruppen eingeteilt worden. Die Gruppe A erhielt ab 18 Uhr des 1. Tages 24 Std

Licht und danach 24 Std Dunkelheit usw., während den Pflanzen der Gruppe B ein hierzu alternierender Rhythmus geboten wurde. Die Ergebnisse beider Versuchsgruppen unterscheiden sich auch hier nicht voneinander (s. Abb. 11 und 12). In den ersten Tagen wurde die gewohnte abendliche Entfaltung zunächst beibehalten. Später dehnte sich aber die Aufblühzeit von abends bis in die Morgenstunden des nächsten Tages aus, so daß wir wieder eine auffallende Verlängerung des für die Anthese zur Verfügung stehenden Zeitabschnittes feststellen können. Bei einem 6stündigen Wechsel wird die Zeitspanne, in der die Blütenöffnung stattfindet, vor allem von abends bis gegen Mittag desselben Tages erweitert, bei einem 24stündigen Wechsel dagegen vom Abend bis in die Morgenstunden des darauffolgenden Tages verlängert. Wir können also sowohl mit einem 6stündigen als auch mit einem 24stündigen Licht-Dunkelwechsel den Aufblührhythmus von *Oe. Berteriana* und *Oe. campylocalyx* weitgehend variieren, es bleibt aber in jedem Fall bei einer täglichen Blütenöffnung. Es war nicht möglich, die Pflanzen zu einer Blütenentfaltung alle 12 bzw. alle 48 Std zu veranlassen.

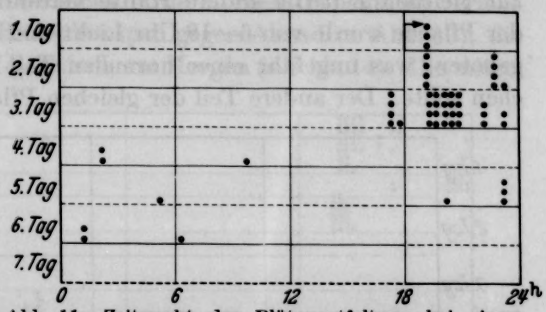


Abb. 11. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei einem 24stündigen Licht-Dunkelrhythmus. ⌜ = Versuchsbeginn. Gruppe A *(Oe. Berteriana)*. —— Belichtungszeit, ---- Verdunkelungszeit

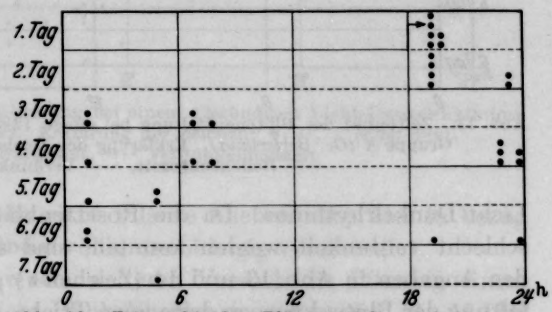


Abb. 12. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei einem 24stündigen Licht-Dunkelrhythmus. ⌜ = Versuchsbeginn. Gruppe B *(Oe. Berteriana)*. —— Belichtungszeit, ---- Verdunkelungszeit

Versuche mit unterschiedlicher Belichtung von Teilen ein und derselben Pflanze

Im weiteren Verlauf der Untersuchungen sollte festgestellt werden, ob allein die Licht-Dunkelrhythmen, die den Blütenknospen geboten werden, die Aufblührhythmik bestimmen oder ob auch die Belichtung der übrigen Pflanzenteile (vor allem der Blätter) bei der zeitlichen Festlegung der Anthese einen wesentlichen Einfluß hat. Im Falle der

letzteren Möglichkeit wären eigenartige Verhältnisse hinsichtlich der Entfaltungsperiodik zu erwarten, wenn verschiedene Abschnitte einer Pflanze unterschiedlich belichtet würden.

Bei diesen Experimenten wurde immer mit einem 12stündigen Licht-Dunkelwechsel gearbeitet. Bei dem zunächst zu schildernden Versuch wurde jeweils nur die Hälfte aller Triebe belichtet, während zur gleichen Zeit die andere Hälfte verdunkelt war. Dem einen Teil der Pflanze wurde von 6—18 Uhr Licht und von 18—6 Uhr Dunkelheit geboten, was ungefähr einer normalen Tag-Nachtperiodizität entsprechen sollte. Der andere Teil der gleichen Pflanze erhielt einen inversen

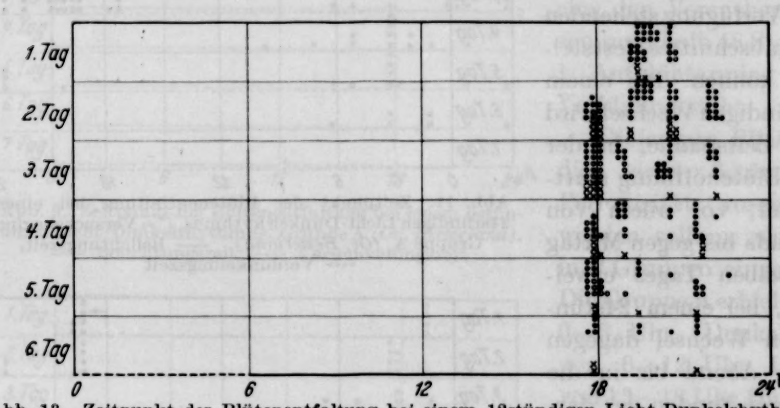


Abb. 13. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei einem 12stündigen Licht-Dunkelrhythmus. Gruppe A *(Oe. Berteriana)*. Erklärung der Zeichen: ●, ○, × siehe Text. —— Belichtungszeit, ---- Verdunkelungszeit

Licht-Dunkelrhythmus. Da die Rosettenblätter der Versuchspflanzen schlecht verdunkelt werden konnten, sind sie entfernt worden. Aus den Angaben in Abb. 13 und 14 (Zeichen ●) geht hervor, daß die Entfaltung der Blütenknospen derjenigen Triebe, die einem normalen Licht-Dunkelcyclus ausgesetzt wurden (Gruppe A), wie üblich in den frühen Abendstunden erfolgte (s. Abb. 13). Die Blütenknospen, die dem umgekehrten Belichtungsrhythmus ausgesetzt waren (Gruppe B), entfalteten sich dagegen in den frühen Morgenstunden (s. Abb. 14). Die zu unterschiedlichen Zeiten belichteten bzw. verdunkelten Triebe ein und derselben Pflanze verhielten sich also hinsichtlich der Blütenentfaltung völlig unabhängig voneinander.

In einem weiteren Experiment ist die vorige Versuchsanordnung nur geringfügig verändert worden. Es wurden hier diejenigen Triebe entblättert, die einen inversen Licht-Dunkelwechsel (6—18 Uhr Dunkelheit, 18—6 Uhr Licht) erhielten. Wenn nämlich die Blätter bei der Suszeption der Belichtungsperiodizität eine Rolle spielten, so könnte mit Hilfe der Entblätterung erreicht werden, daß diese Triebe in bezug auf den Entfaltungszeitpunkt trotz der andersartigen Licht-Dunkel-

rhythmik von den beblätterten Trieben abhängig werden, und zwar in dem Sinn, daß die Blütenknospen der entblätterten Triebe auch nach Darbietung der inversen 12stündigen Licht-Dunkelperiodizität die abendliche Entfaltung beibehalten und sich nicht auf Öffnung in den frühen Morgenstunden umstellen lassen. Wie aber aus den Abb. 13 und 14 (Zeichen ○) hervorgeht, unterscheidet sich das Ergebnis nicht von dem des vorhergehenden Versuchs. Die normal belichteten Triebe (Gruppe A) öffneten ihre Blütenknospen gegen Abend (s. Abb. 13), die invers belichteten (Gruppe B) jedoch am Morgen (s. Abb. 14). Die unter-

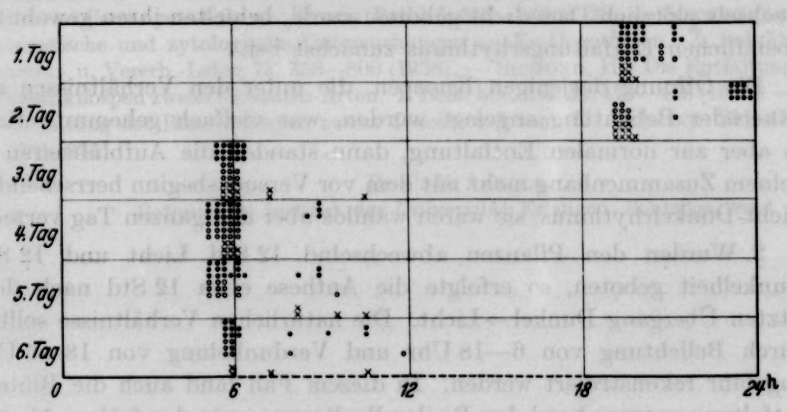


Abb. 14. Zeitpunkt der Blütenentfaltung bei einem 12stündigen Licht-Dunkelrhythmus. Gruppe B (*Oe. Berteriana*). Erklärung der Zeichen: ●, ○, × siehe Text. —— Belichtungszeit, ---- Verdunkelungszeit

schiedlich belichteten Triebe einer Pflanze blieben auch hier in bezug auf den Zeitpunkt der Anthese völlig unabhängig voneinander.

Schließlich wurden in einem weiteren Versuch die Pflanzen einem normalen 12stündigen Licht-Dunkelrhythmus ausgesetzt (6—18 Uhr Licht, 18—6 Uhr Dunkelheit) und nur jeweils der kurze oberste Abschnitt eines einzigen Triebes (meist der Haupttrieb) mit den heranwachsenden, noch nicht geöffneten Knospen wurde invers belichtet bzw. verdunkelt (6—18 Uhr Dunkelheit, 18—6 Uhr Licht). Diese so behandelten Blütenknospen (Gruppe B) öffneten sich wieder in den Morgenstunden (s. Abb. 13, Zeichen ×), während die Entfaltung aller anderen Knospen (Gruppe A) natürlich in den frühen Abendstunden erfolgte (s. Abb. 14, Zeichen ×).

Auf Grund der vorliegenden Resultate kann man feststellen, daß sich die Blütenknospen gemäß des allein ihnen gebotenen Licht-Dunkel-Rhythmus entfalten. Es spielt dabei keine Rolle, ob die übrigen Pflanzenteile denselben Belichtungsverhältnissen ausgesetzt waren oder nicht. Andersartige Licht-Dunkelrhythmen, die der übrigen Pflanze geboten werden, bleiben ohne Einfluß.

Zusammenfassung

An *Oe. Berteriana* und *Oe. campylocalyx* wurden Untersuchungen mit dem Ziele durchgeführt, die Ursachen der rhythmischen abendlichen Blütenentfaltung aufzuklären. Dabei zeigte sich als wichtigstes Ergebnis, daß der Zeitpunkt der Anthese von den Licht-Dunkelperioden abhängig ist, denen die Blütenknospen während ihrer Entwicklung ausgesetzt sind. Im einzelnen konnten folgende Ergebnisse ermittelt werden:

1. Blühreife Pflanzen, denen statt eines natürlichen Tag-Nachtwechsels plötzlich Dauerlicht geboten wurde, behielten ihren gewohnten abendlichen Entfaltungsrhythmus zunächst bei.

Die Öffnung derjenigen Knospen, die unter den Verhältnissen andauernder Belichtung angelegt wurden, war vielfach gehemmt. Kam es aber zur normalen Entfaltung, dann standen die Aufblühzeiten in keinem Zusammenhang mehr mit dem vor Versuchsbeginn herrschenden Licht-Dunkelrhythmus, sie waren wahllos über den ganzen Tag verteilt.

2. Wurden den Pflanzen abwechselnd 12 Std Licht und 12 Std Dunkelheit geboten, so erfolgte die Anthese etwa 12 Std nach dem letzten Übergang Dunkel→Licht. Die natürlichen Verhältnisse sollten durch Belichtung von 6—18 Uhr und Verdunkelung von 18—6 Uhr ungefähr rekonstruiert werden. In diesem Fall fand auch die Blütenentfaltung entsprechend den Freilandbedingungen in den frühen Abendstunden statt. Bei einer inversen Licht-Dunkelperiodik (6—18 Uhr Dunkelheit, 18—6 Uhr Licht) erfolgte die Knospenöffnung dagegen in den frühen Morgenstunden.

Der Zeitpunkt der Blütenentfaltung wird aber weniger vom Moment des Überganges Dunkel→Licht bestimmt, sondern vor allem durch die jeweilige Länge der nacheinander gebotenen Licht- und Dunkelperioden. Verlängert man die tägliche Belichtungszeit von 12 auf 18 Std, so wird die Aufblühzeit um einige Stunden vorverlegt, verkürzt man die Belichtungszeit von 12 auf 6 Std, so beginnt die Anthese später.

3. Es war nicht möglich, durch Darbietung eines 6stündigen Licht-Dunkelwechsels die Versuchspflanzen zu einem 2maligen Aufblühen innerhalb eines Tages zu veranlassen. Ebensowenig konnten die Pflanzen durch einen 24stündigen Licht-Dunkelwechsel auf einen 48stündigen Entfaltungsrhythmus umgestimmt werden. Die Blütenöffnung geschah in beiden Fällen nach wie vor alle 24 Std. Allerdings wurde der für die Anthese zur Verfügung stehende Zeitabschnitt beträchtlich ausgedehnt, und zwar bei einem 6stündigen Rhythmus von abends (normal) bis gegen Mittag desselben Tages, bei einem Licht-Dunkelwechsel alle 24 Std dagegen vom Abend (normal) bis in die Morgenstunden des darauffolgenden Tages.

4. Entscheidend für die Bestimmung des Zeitpunktes der Anthese ist der Licht-Dunkelrhythmus, der auf die Blütenknospen während ihrer Entwicklung einwirkt. Es ist dabei völlig belanglos, ob die übrigen Pflanzenteile denselben oder anderen Lichtverhältnissen ausgesetzt sind.

Literatur

Arnold, C. G.: Antibiotische Stoffe aus Pflanzen-Samen. Z. Bot. **46**, 516 bis 549 (1958). — Bünning, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanze. Berlin 1953. — Glenk, H. O.: Keimversuche mit *Oenothera*-Pollen in vitro (noch unveröffentlicht). — Schmucker, Th.: Die Bedingungen des nächtlichen Aufblühens von *Cereus grandiflorus*. Planta (Berl.) **5**, 549—559 (1928). — Schwemmle, J.: Genetische und zytologische Untersuchungen an Eu-Oenotheren. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **75**, 358—800 (1938). — Sigmond, H.: Die Entfaltung der Blütenknospen zweier *Oenothera*-Arten. I. Beih. bot. Zbl. **46**, 479—488 (1930). — Die Entfaltung der Blütenknospen zweier *Oenothera*-Arten. II. Beih. bot. Zbl. **47**, 69—138 (1931).

Dr. C.-G. Arnold,
Botanisches Institut der Universität Erlangen, Schloßgarten 4

Planta, 53, 212—218 (1959)

Aus der Lehr- und Forschungsanstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau
Geisenheim a. Rh.

Kurze Mitteilung

ÜBER DEN EINFLUSS DES HETEROAUXINS AUF DIE KATIONENZUSAMMENSETZUNG DER BLATTASCHE DER TOMATE*

Von
HANS ROBERT BODE

(Eingegangen am 2. Februar 1959)

Die Regentraufe der Schwarznuß *(Juglans nigra)* enthält Stoffe, die an den Blättern von Tomatenpflanzen *Epinastie* auslösen (BODE 1958). Bei der Untersuchung dieser Stoffe wurde als Vergleichstest die gleiche durch *Heteroauxin* an den Pflanzen hervorgerufene Erscheinung herangezogen. Hierbei konnten unter der Einwirkung einer als Staubnebel über die Blattflächen der Tomatenpflanze zugeführten IES-Lösung bemerkenswerte Veränderungen im Konzentrationsverhältnis der Kationen (Kalium:Calcium) an den Blättern beobachtet werden.

Der jeweilige Entwicklungszustand eines Blattes drückt sich in der Relation K:Ca seiner Aschensubstanzen aus. Die Aschenanalyse der Blätter junger, im Topf gezogener Tomatenpflanzen ergibt in den verschiedensten Altersstufen für die Anteile der einzelnen *Kationen* an der Zusammensetzung der Asche folgendes Bild der Verteilung: Der *Kaliumgehalt* ist im ältesten (also 1.) Folgeblatt am geringsten und steigt bis zu den noch in der Streckung begriffenen Spitzenblättern (5. und 6. Folgeblatt) an. Umgekehrt weist der *Calciumanteil* im basalen ältesten Folgeblatt den höchsten Wert auf, um nach der Sproßspitze hin zu fallen. Das in der Tabelle 1 angeführte Zahlenbeispiel[1] veranschaulicht die seit langem bekannte Tatsache, daß der Kaliumgehalt eines Blattes im Verhältnis zu dem des Calciums mit dem Alter beträchtlich abnimmt. Vom Kalium wissen wir, daß es aus den älteren Blättern in die wachsenden Teile der Pflanze bei Bedarf auszuwandern vermag, während für das Calcium eine Auswanderung aus dem Blatt unter normalen Bedingungen nur in einigen Fällen und dann nur in beschränktem Ausmaß nachgewiesen werden konnte. [Literatur bei FISCHER 1950, 1958; LAUSCH 1958:

* Mit Unterstützung der Deutschen Forschungsgemeinschaft.

[1] Die Bestimmung der Kationen wurde mit dem Zeissschen Flammenphotometer von Frl. Dr. E. LEIDENFROST vom Institut für Bodenkunde und Pflanzenernährung der Geisenheimer Anstalt durchgeführt, wofür ich ihr meinen herzlichen Dank aussprechen möchte.

Tabelle 1

Von 20 Tomatenpflanzen, gesät am 3. 3. 58 und am 28. 3. 58 pikiert, wurden die Blätter nach *Altersstufen* getrennt am 25. 4. 58 geerntet. Sorte „Haubners Vollendung".

	Frisch-gewicht	Trocken-gewicht	Asche vom Trocken-gewicht
1. + 2. Folgeblatt	15,620 g	1,400 g	23,6%
3. + 4. Folgeblatt	49,620 g	4,490 g	17,8%
5. + 6. Folgeblatt	34,150 g	4,790 g	13,1%

In 100 mg Asche sind enthalten:

	K_2O	Na_2O	CaO	MgO
1. + 2. Folgeblatt	12,5	3,75	30,0	5,0
	12,5	3,75	29,75	5,0
3. + 4. Folgeblatt	19,5	2,5	22,5	4,25
	19,5	2,5	22,5	4,25
5. + 6. Folgeblatt	24,75	1,25	20,0	4,25
	25,0	1,25	20,0	4,25

vgl. hierzu die aufschlußreichen Isotopen-Autoradiogramme mit Ca_{45} (Tuckey 1958).] — Polar entgegengesetzt gerichtete Propfstellen miteinander verbundener Seitenzweige von Tomaten werden von Ca_{45} im Gegensatz zu P_{32} *nicht* durchwandert (bei Bohnen: Bidulph u. Mitarb. 1958). — Sobald sich ein Kalimangel in der Topferde einzustellen beginnt, sinkt durch eine vermehrte Abwanderung in die wachsenden Teile der Kalianteil der Asche der ältesten Blätter. Wegen dieser starken Abhängigkeit des Aschenbildes vom Entwicklungsstadium lassen sich bei verschiedenen Versuchspflanzen nur Blätter gleichen Alters miteinander vergleichen.

Ähnlich wie der K-Anteil nimmt mit dem Altern der Blätter auch ihr *Wuchsstoffgehalt* ab. Das in der Entfaltung begriffene Blatt verfügt über einen hohen, das alternde nur noch über einen geringfügigen Wuchsstoffgehalt (Literatur bei Söding 1952, S. 30). Nun haben uns zahlreiche Untersuchungen damit bekannt gemacht, daß bestimmte IES-Konzentrationen die *Wasserpermeabilität* im Gewebe verschiedener Pflanzen erheblich zu erhöhen vermögen (Brauner u. Hasman 1949, 1952; v. Guttenberg 1951, 1952; van Overbeck 1944; Pohl 1948, 1953 u. a. m.). Dieser Vorgang läßt sich auch an jungen Tomatenpflanzen nach einer Besprühung mit IES-Lösung (10^{-5}, 10^{-6}) an der Veränderung des Verhältnisses vom Frisch- zum Trockengewicht unschwer ablesen (Tabelle 2). Die Prozentzahlen der IES-Pflanzen beziehen sich auf die Kontrollpflanzen = 100. Hierbei ist besonders auffallend, daß die untersten, also die ältesten Folgeblätter mit der stärksten Frischgewichtszunahme gegenüber den unbehandelten Kontrollen auf die IES-Besprühung reagieren.

Tabelle 2. *Tomatenversuch Nr. 136*[1]

30 gleich große Tomatenpflanzen, gesät am 10. 6. 58, Versuch im Gewächshaus am 15. 7. 58 angesetzt, Sorte „Haubners Vollendung". Am 21. und 23. 7. erhielten 15 Pflanzen als Kontrolle eine Besprühung mit aqua bidest., 15 Versuchspflanzen eine Besprühung der oberirdischen Pflanzenteile mit einer IES-Lösung 1 mg/Liter. Am 27. 7. 58 je 10 Pflanzen geerntet. IES-Pflanzen zeigen Epinastie der Blätter.

	1. + 2. Blatt	3. + 4. Blatt	5. + 6. Blatt	Spitze
Kontrollpflanzen				
Frischgewicht . . .	13,710 g	44,420 g	28,060 g	4,420 g
Trockengewicht . .	1,060 g	3,650 g	2,550 g	0,550 g
Trockengewicht in Prozent des Frischgewichtes .	7,7	8,2	9,1	12,4
Asche von 2 g Trockensubstanz .	488 mg	403 mg	311 mg	—
	24,4%	20,2%	15,6%	—
IES-Pflanzen				
Frischgewicht . . .	16,200 g	50,840 g	28,880 g	5,050 g
bezogen auf Kontrolle = 100 . . .	118,2%	114,4%	102,9%	114,2%
Trockengewicht . .	1,120 g	3,690 g	2,430 g	0,530 g
bezogen auf Kontrolle = 100 . . .	105,7%	101,1%	95,3%	96,4%
Trockengewicht in Prozent des Frischgewichtes	6,9	7,3	8,4	10,5
Asche von 2 g Trockensubstanz .	532 mg	436 mg	330 mg	—
	26,6%	21,8%	16,5%	—

[1] Drei weitere Versuchsserien zeigen denselben Effekt.

Dieser starken Frischgewichtszunahme der IES-besprühten Pflanzen steht eine nur geringfügige Zunahme ihres Trockengewichtes gegenüber. Ein Vergleich der Blattflächen weist für die ältesten Blätter eine wesentliche Zunahme gegenüber den Kontrollen (+30%) auf. Andererseits wirkt die IES-Besprühung sich in einer Hemmung der Flächenentwick-

Tabelle 3. *Blattflächen in cm² (je 3 Pflanzen)*

	Kontrolle	IES-Pflanzen
1./2. Folgeblatt .	65,0 cm² (100%)	84,5 cm² (130%)
3./4. Folgeblatt .	242,1 cm² (100%)	247,9 cm² (102%)
5./6. Folgeblatt .	280,8 cm² (100%)	250,9 cm² (89%)

lung der jüngsten Spitzenblätter aus (vgl. Tabelle 3). Die Zuführung von IES über die Blattoberfläche (auf 100 cm² entfallen bei der Besprühung etwa 1 γ IES) wirkt sich insbesondere an den Altersstufen am nachhaltigsten aus, bei denen ursprünglich der geringste Wuchsstoffgehalt im Blatt anzunehmen ist.

Eine Untersuchung der Aschenzusammensetzung der Pflanzen des in Tabelle 2 angeführten Versuches ergab folgende interessante Feststellung (vgl. Tabelle 4): Entsprechend dem äußerlich sichtbaren Erfolg der IES-Besprühung an den *ältesten* Folgeblättern finden wir in den mit Heteroauxin behandelten Versuchspflanzen eine beachtliche Verschiebung der K:Ca-Relation nach der *Kaliseite* hin.

Eine Analyse von jeweils 100 mg Blattasche läßt bei einer anteilmäßigen Veränderung des Kaliums eine entsprechende anderer Ionen (z. B. Calcium) erkennen.

Gleichzeitig beobachten wir an Orten mit hohem K-Gehalt eine relative Abnahme des Kalianteils an der Blattasche (3./4. Folgeblatt,

Tabelle 4

In 100 mg Asche waren enthalten					Gesamtasche im Blatt		
	K_2O	Na_2O	CaO	MgO	mg	K_2O	CaO
Kontrollpflanzen							
1./2. Folgeblatt	*14,75*	4,5	28,35	5,0	237,4	35,0	67,3
3./4. Folgeblatt	29,8	3,8	25,0	4,9	737,3	220,0	184,3
5./6. Folgeblatt	36,1	2,6	16,2	4,5	397,8	143,7	64,4
IES-Pflanzen[1]							
1./2. Folgeblatt	*20,2*	4,2	25,5	5,8	300,9 + 63,5	61,0 + 26	76,7 + 8,9
3./4. Folgeblatt	27,5	3,3	24,6	5,5	804,4 + 67,1	220,0 ± 0	197,8 + 13,5
5./6. Folgeblatt	35,6	2,1	17,2	5,1	401,0 + 3	152,4 + 9	68,9 + 4,5

[1] Die IES-Pflanzen sind mit einer IES-Lösung 1 mg/Liter besprüht worden.

vgl. Tabelle 4). Obgleich die Gesamtasche gegenüber den Kontrollen gestiegen ist (vermehrte Calciumaufnahme), ist die Kaliummenge die gleiche geblieben. In derselben Zeit haben die beiden ältesten Blätter (1./2. Folgeblatt) eine vermehrte Kaliumaufnahme von 26 mg gegenüber den Kontrollen aufzuweisen. Es blieb in unseren Versuchen ungeklärt, ob die Kaliumeinwanderung durch eine vermehrte Entnahme von K aus dem Wurzelzustrom erfolgte oder ob auch oberirdische Sproßteile daran beteiligt waren.

Außer Frage steht hier eine Koppelung zwischen der Wuchsstoffaufnahme der ältesten Folgeblätter und der an ihnen unter der Einwirkung der von außen aufgenommenen IES beobachteten Zunahme an K im Blatt. Welches Moment führt zu der Ungleichheit des Verhaltens der Blätter in ihren verschiedenen Altersstufen gegenüber einer Heteroauxinzufuhr über die Blattoberfläche? Die Oberflächen erhielten mit dem Sprühnebel die gleiche Konzentration und Menge IES pro Flächeneinheit. Ihrer Altersstufe entsprechend treffen wir in den Geweben der Blätter ein reziprokes Mengenverhältnis der beiden Antagonisten Kalium — Calcium an. Gesetzt den Fall, die Wuchsstoffverteilung in

unseren Tomatenpflanzen entspräche dem allgemein anzutreffenden Schema: Reichlich aktivierter Wuchsstoff in den in der Entwicklung begriffenen jüngeren Blättern und nur noch geringfügige Mengen nach Abschluß ihres Flächenwachstums, so wird dieselbe Außenkonzentration der IES das eine Mal auf ein Plasma mit viel aktivem Wuchsstoff, bei den älteren dagegen auf ein wuchsstoffarmes Plasma treffen. Es wäre denkbar, daß im letzteren Falle die Zufuhr von synthetischem Heteroauxin zu einer Ingangsetzung der Auxinaktivierung und damit des Streckungswachstums der Blätter führen kann. Schwer verständlich bleibt dabei, daß trotz einer erheblichen Zunahme der Gesamtasche in diesen Blättern (3./4.) die Kalimengen gegenüber den Kontrollen konstant bleiben, es sei denn, man denkt an eine Fernwirkung auf die spitzenwärts inserierten Blätter. Offenbaren sich hierin die verschiedenen Wanderwege des Kaliums und des Calciums (Phloem-Xylem)? Es hat den Anschein, als ob die *β-Indolylessigcäure* nach ihrem Eintritt in die Gewebe des alternden Blattes einen *Acceptormechanismus* für das Kalium zur Auslösung brächte. Wenn diese Annahme richtig ist, so stehen in den oberen Blättern der Tomatenpflanze viel aktiviertem Wuchsstoff und einer entsprechenden Menge des Acceptors ein hoher *Kaligehalt* gegenüber. In den unteren noch kaliarmen Blättern aber ist nach Aufnahme der IES von außen die zunächst vorhandene K-Menge der nach der Auxinaktivierung freigesetzten Acceptormeng noch nicht äquivalent. Die Richtung der Kaliwanderung in der Pflanze kehrt sich, wie in unserem Versuchsergebnis, so lange um, bis es zu einer Absättigung des Kaliumbedarfs der untersten Blätter gekommen ist. So erklärt sich auch die Entwicklungshemmung der jüngsten Blätter (5. und 6. Folgeblatt) der IES-Pflanzen gegenüber der Kontrolle.

Es gibt neuere Befunde, die unsere Annahme stützen. BRUCE und BONNER (1957) untersuchten den Zusammenhang zwischen einer als Außenmedium gebotenen Calciumlösung und ihrer Inhibitionswirkung auf den durch Auxin bedingten Streckungsvorgang an Segmenten der Haferkoleoptile. Sie kamen dabei zu folgendem Ergebnis: „*Calcium inhibition is readily reversible by replacement of calcium by potassium in the presence of auxin, but not in the absence of auxin*“[1]. RICE und ROHRBACH (1958) fanden für die Wirksamkeit von radioaktivem 2,4 D auf Kalimangelpflanzen von Tomaten bei einer vorherigen oder gleichzeitigen Verabfolgung von Kalium eine Beschleunigung der Einwanderung der radioaktiven Substanz und eine sichtbare Verstärkung ihrer schädigenden Wirkung. — Ganz andere Wirkungen erzielt eine von außen her der Wurzeloberfläche dargebotene IES-Lösung. KÖGL und MILDER (1956) haben an etiolierten Keimpflanzen von *Avena sativa* nach Zusatz

[1] Von mir ausgezeichnet.

von IES zur Nährlösung eine *verminderte* Salzaufnahme konstatiert. Die Aufnahme des Wuchsstoffs führte hierbei zu vermehrtem Dickenwachstum der Wurzeln auf Kosten ihres Längenwachstums. Als Ursache für die verminderte Salzaufnahme ermittelten sie eine durch die Wuchsstoffaufnahme vermehrte Calciumablagerung in den Membranen der Wurzeloberfläche und eine hierdurch bedingte Permeabilitätsabnahme. Noch unentschieden ist die Frage, ob die bei unserer Versuchsanstellung zutage getretene Erscheinung nur einen durch den Ernährungszustand der Pflanze bedingten Sonderfall darstellt, oder ob diese durch IES auslösbare Acceptorwirkung gegenüber dem Kalium generell besteht, so daß nur das Verhältnis zwischen Wuchsstoff und dem vorhandenen Kaliumspiegel im Plasma über die Wanderrichtung des Kaliums entscheidet.

Zusammenfassung

Die in jungen, eingetopften Tomatenpflanzen vorliegende Verteilung der Kationen in der Blattasche zeigt ein Maximum an Kalium in den jüngsten und ein Minimum in den ältesten Blättern. Für das Calcium liegen die Verhältnisse umgekehrt. Eine Besprühung der ganzen Pflanze mit einer Lösung von IES (10^{-5}, 10^{-6}) hat eine epinastische Bewegung der Blätter zur Folge. Hierbei haben die ältesten Folgeblätter eine Frischgewichtszunahme von 18% zu verzeichnen, der nur eine geringfügige Trockengewichtszunahme gegenübersteht (vermehrter Wassereinstrom). Nach der IES-Besprühung erfolgt bei den ältesten Blättern eine starke Kalizunahme, während gleichzeitig in den jüngeren Blättern eine leichte Abhahme des Kaliums in der Aschenzusammensetzung zu erkennen ist.

Die dabei zu beobachtende Umkehrung der Kaliwanderung in basipetaler Richtung zu den ältesten Blättern hin läßt eine von der Indolylessigsäure ausgelöste Acceptorwirkung gegenüber dem Kalium vermuten.

Literatur

Biddulph, O., Susann Biddulph, R. Cory and H. Koontz: Circulation patterns for phosphorus sulfur and calcium in the bean plant. Plant Physiol. **33**, 293—299 1958. — Bode, H. R.: Beiträge zur Kenntnis allelopathischer Erscheinungen bei einigen Juglandaceen. Planta (Berl.) **51**, 440—480 (1958). — Brauner, L., u. M. Hasman: Über den Mechanismus der Heteroauxin-Wirkung auf die Wasseraufnahme von pflanzlichem Speichergewebe. Bull. Fac. Méd. Istanbul **12**, 57—62 (1949). — Weitere Untersuchungen über den Wirkungsorganismus des Heteroauxins bei der Wasseraufnahme von Pflanzenparenchym. Protoplasma **41**, 302—326 (1952). — Bruce, C., and J. Bonner: The nature of growth inhibition by calcium in the *Avena* coleoptile. Planta (Berl.) **48**, 696—723 (1957). — Fischer, H.: Über protoplasmatische Veränderungen beim Altern von Pflanzenzellen. Protoplasma **39**, 661—676 (1950). — Der Transport der Mineralstoffe. In W. Ruhland, Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. IV. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1958. — Guttenberg, H. v., u. A. Beythien: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Planta (Berl.) **40**, 36—39 (1951). —

Guttenberg, H. v., u. G. Meinl: Über den Einfluß von Wirkstoffen auf die Wasserpermeabilität des Protoplasmas. Planta (Berl.) **40**, 431—442 (1952). — Kögl, F., u. J. Muldeer: Over de invloed van hetero-auxine op biochemische processen in de kiemplant van *Avena sativa*. Proc. kon. need. Akad. Wet., Ser. B **59**, 231—241 (1956). — Lausch, E.: Untersuchungen über Calcium-Rücktransport in höheren Pflanzen. Flora (Jena) **145**, 542—588 (1958). — Overbeck, J. van: Auxin, water uptake and osmotic pressure in potato tissue. Amer. J. Bot. **31**, 265—269 (1944). — Pohl, R.: Ein Beitrag zur Analyse des Streckungswachstums der Pflanzen. Planta (Berl.) **36**, 230—261 (1948). — Über die Wuchsstoffwirkung beim Streckungswachstum des Sprosses. Naturwiss. **40**, 110—111 (1953). — Rice, E., and L. Rohrbach: Relation of potassium nutrition of 2,4-Dichlorophenoxyacetic acid in tomato plants. Plant Physiol. **33**, 300—303 (1958). — Söding, H.: Die Wuchsstofflehre. Stuttgart: Georg Thieme 1952. — Tukey, H. B.: Die Anwendung radioaktiver Isotopen für die Bestimmung von Aufnahme, Transport und Auswaschung der Nährstoffe in oberirdischen Pflanzenteilen. Gartenbauwiss. **23** (5), 101—112 (1958).

Dr. H. R. Bode, Geisenheim a. Rh.,
Lehr- u. Forschungsanstalt für Wein-, Obst- u. Gartenbau;
Abt. Experiment. Soziologie der Kulturpflanzen

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u. a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

Genetisches und Cytogenetisches Wörterbuch

Von

Dr.-agr. **R. Rieger** und Dipl.-agr. **A. Michaelis**

Institut für Kulturpflanzenforschung Gatersleben der Deutschen Akademie der Wissenschaften zu Berlin

Zweite, erweiterte Auflage. Mit 149 Abbildungen. IV, 648 Seiten 8°. 1958.

Ganzleinen DM 49.60

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Theoretische Biochemie

Physikalisch-chemische Grundlagen der Lebensvorgänge

Von **Hans Netter**, o. ö. Professor der Physiologischen Chemie an der Universität Kiel.
Mit 243 Textabbildungen. IX, 816 Seiten Gr.-8°. 1959. Ganzleinen DM 88.—

Inhaltsübersicht: Einleitung: Vom Sinn der physikalisch-chemischen Analyse biologischer Erscheinungen. — 1. Teil: **Statik.** Teilchen und Kräfte in molekularen Dimensionen. — Wasser, Diffusion, Osmose. — Die Elektrolyte. — Phasen und Grenzflächen. — Hochmolekulare Strukturbildner. — 2. Teil: **Dynamik.** Energetische Grundlagen der Lebensvorgänge. — Physikalische Grundlagen der biologischen Oxydationen. — Biologische Verwendung und Schaffung freier chemischer Energie. — Die Steuerung der Geschwindigkeit biochemischer Reaktionen. — **Schlußkapitel.** Dynamische und strukturelle Funktionseinheiten. — Anhang. — Literaturverzeichnis. — Sachverzeichnis.

In dem breit angelegten Buch wird der vom Verfasser vor 7 Jahren mit der „Biologischen Physikochemie" begonnene Versuch weitergeführt, wesentliche Teile der physikalischen Chemie dem Biologen so zugänglich zu machen, daß er mit ihnen für seine Zwecke gedanklich und praktisch operieren lernt. Denn nur so kann er einem, wenn nicht sogar dem Hauptproblem der kausalen Biologie näherkommen: die Verknüpfung der unsichtbaren Feinstruktur mit den sich an ihr abspielenden und durch sie geregelten biochemischen Vorgängen vorzunehmen. Daß der Weg von der biochemischen Reaktion zum Verständnis der biologischen Funktion über eine physikalisch-chemisch zu verstehende Integration führt, wird dem Biochemiker bei der gedanklichen Bearbeitung seiner Befunde zunehmend bewußt. Die Darstellung trägt nicht nur den inzwischen besonders in der reinen Biochemie erzielten Erfolgen Rechnung, sie ist nicht nur im einzelnen exakter, breiter und in mancher Beziehung leichter zugänglich geworden. Sie hat sich vor allem bemüht, auch die modernen biochemischen Erkenntnisse unter funktionellen Gesichtspunkten so zusammenzufassen, daß geschlossene Darstellungen des Mechanismus biologischer Grundleistungen gewagt werden, welche dem augenblicklichen Wissensstand entsprechen. Das Buch ist zur Auffrischung und Ausrichtung der physikalisch-chemischen Kenntnisse derjenigen Kreise gedacht, welche sich mit dem weiten Gebiet der Biochemie befassen. Es will dadurch allen wissenschaftlich tätigen Medizinern und Biologen ein Helfer sein, soweit sich diese um den Fortschritt ihrer Teildisziplinen bemühen.

SPRINGER-VERLAG · BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG., Würzburg
Printed in Germany